

**OPTIMASI EKSTRAKSI PEWARNA ALAMI DARI DAUN
ALPUKAT (*Persea americana* Mill) MENGGUNAKAN
METODE *RESPONSE SURFACE METHODOLOGY* (RSM)
(Kajian Rasio Bahan Baku Terhadap Pelarut, Lama
Ekstraksi dan Suhu Ekstraksi)**

SKRIPSI

Oleh:
OKTAVIAN FAJAR RAHMAN
135100307111015



**JURUSAN TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**OPTIMASI EKSTRAKSI PEWARNA ALAMI DARI DAUN
ALPUKAT (*Persea americana* Mill) MENGGUNAKAN
METODE *RESPONSE SURFACE METHODOLOGY* (RSM)
(Kajian Rasio Bahan Baku Terhadap Pelarut, Lama
Ekstraksi dan Suhu Ekstraksi)**

**Oleh:
OKTAVIAN FAJAR RAHMAN
135100307111015**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Teknik



**JURUSAN TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul TA : Optimasi Ekstraksi Pewarna Alami dari Daun Alpukat
(*Persea americana* Mill) menggunakan Metode
Response Surface Methodology (RSM) (Kajian
Rasio Bahan Baku terhadap Pelarut, Lama Ekstraksi
dan Suhu Ekstraksi)

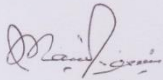
Nama Mahasiswa : Oktavian Fajar Rahman

NIM : 135100307111015

Jurusan : Teknologi Industri Pertanian

Fakultas : Teknologi Pertanian

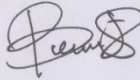
Pembimbing Pertama,



Mas'ud Effendi, STP., MP.
NIP. 19800823 200501 1 003

Tanggal Persetujuan:

Pembimbing Kedua,



Beauty Suestining Dyah D., ST., MT.
NIK. 201304 831202 2 001

Tanggal Persetujuan:


.....

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Tugas Akhir : Optimasi Ekstraksi Pewarna Alami dari Daun Alpukat
(*Persea americana* Mill) menggunakan Metode
Response Surface Methodology (RSM) (Kajian Rasio
Bahan Baku terhadap Pelarut, Lama Ekstraksi dan Suhu
Ekstraksi)

Nama Mahasiswa : Oktavian Fajar Rahman
NIM : 135100307111015
Jurusan : Teknologi Industri Pertanian
Fakultas : Teknologi Pertanian

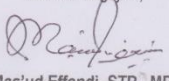
Dosen/Penguji I,


Dr. Sucipto, STP, MP.
NIP. 19730602 199903 1 001

Dosen Penguji II,


Beauty Suestining Dyah D., ST., MT.
NIK. 201304 831202 2 001

Dosen Penguji III,


Mas'ud Effendi, STP., MP.
NIP. 19800823 200501 1 003



Tanggal Lulus TA:.....

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Oktavian Fajar Rahman, lahir di Sidoarjo, 23 Oktober 1994 dari Ayah bernama Muhadi Santoso dan Ibu bernama Purwati Setyoningsih. Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SD Negeri 1 Balowerti Kediri dan lulus pada tahun 2007. Kemudian melanjutkan di SMP Negeri 1 Kediri dan lulus pada tahun 2010, dilanjutkan ke SMA Negeri 2 Kediri dan lulus pada tahun 2013. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan S1 di Universitas Brawijaya pada jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian melalui jalur Seleksi Penerimaan Minat dan Kemampuan (SPMK) dan dinyatakan lulus pada tahun 2018.

Selama masa studinya, penulis aktif sebagai asisten praktikum di beberapa mata kuliah seperti Asisten Statistika Industri II 2015 dan Asisten PLO (*Plant Layout*) 2017. Penulis juga aktif berorganisasi sebagai Pengurus Harian HIMATITAN 2015/2016. Penulis juga aktif dalam kegiatan kepanitiaan seperti HIMATITAN Great Event 2015.

Alhamdulillahirabbil'alamin...

**Karya ini kupersembahkan kepada
Orang tuaku, Kakaku, Adikku, serta Teman, Sahabat
dan kerabat.**

Semoga Karya ini bisa bermanfaat.

PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Oktavian Fajar Rahman
NIM : 135100307111015
Jurusan : Teknologi Industri Pertanian
Fakultas : Teknologi Pertanian
Judul Tugas Akhir : Optimasi Ekstraksi Pewarna Alami dari Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) menggunakan Metode *Response Surface Methodology* (RSM) (Kajian Rasio Bahan Baku terhadap Pelarut, Lama Ekstraksi dan Suhu Ekstraksi)

Menyatakan bahwa,
Tugas Akhir dengan judul di atas merupakan karya asli penulis tersebut di atas. Apabila dikemudian hari terbukti pernyataan ini tidak benar saya bersedia dituntut sesuai hukum yang berlaku.

Malang, 14 Februari 2018
Pembuat Pernyataan,

Oktavian Fajar Rahman
NIM. 135100307111015

OKTAVIAN FAJAR RAHMAN 135100307111015. OPTIMASI EKSTRAKSI PEWARNA ALAMI DARI DAUN ALPUKAT (*Persea americana* Mill) MENGGUNAKAN METODE *RESPONSE SURFACE METHODOLOGY* (RSM) (Kajian Rasio Bahan Baku terhadap Pelarut, Lama Ekstraksi dan Suhu Ekstraksi). Skripsi. Pembimbing : Mas'ud Effendi STP., MP. dan Beauty Suestining Diyah Dewanti, ST.. MT.

RINGKASAN

Warna adalah salah satu faktor yang diperhatikan dalam produksi makanan, tekstil dan kosmetik. Sebagian besar proses pewarnaan menggunakan pewarna sintetis, dampak negatif dari limbah pewarna sintetis berbahaya untuk lingkungan dan ekosistem. Salah satu alternatif pewarna alami berasal dari daun alpukat untuk menghasilkan warna cokelat. Tujuan penelitian ini adalah menentukan rasio bahan baku terhadap pelarut, lama ekstraksi dan suhu ekstraksi yang optimal dalam ekstraksi pewarna alami daun alpukat terhadap kuantitas dan kualitas pewarna alami.

Penelitian ini menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) dengan pelarut etanol 96% (teknis). Optimasi kondisi ekstraksi menggunakan metode RSM dengan rancangan desain tiga variabel yaitu *Box Behnken Design*. Variabel yang digunakan adalah rasio bahan terhadap pelarut (X_1) (0,02 ; 0,04; 0,06), lama waktu ekstraksi (X_2) (10 menit ; 15 menit ; 20 menit) dan suhu ekstraksi (X_3) (50 °C ; 55 °C ; 60 °C). Respon yang dioptimasi adalah rendemen dan kadar total tanin.

Hasil dari penelitian ini adalah perlakuan terbaik pada rasio bahan terhadap pelarut, lama ekstraksi dan suhu ekstraksi berturut-turut adalah 0,05; 20 menit dan 57,15°C. Respon rendemen terendah dan tertinggi berturut-turut adalah 6,285% dan 12,08%. Respon total tanin terendah dan tertinggi berturut-turut adalah 267,43 mg GAE/g dan 1067,43 mg GAE/g. Berdasar tiga kriteria analisis pemilihan model yaitu *Sequential Model Sum of Squares*, *Lack of Fit* dan *Model Summary Statistic* pada respon rendemen dan total tanin terpilih model kuadrat. Berdasar

analisis ragam (ANOVA) respon rendemen diperoleh persamaan kuadratik yaitu $Y_1 = 48,06125 + 365,49583 X_1 - 3,67723 X_2 - 0,79039 X_3 + 0,04648 X_2X_3 + 0,034883 X_2^2$ dan persamaan kuadratik respon total tanin yaitu $Y_2 = -23884,035 + 65975,333 X_1 + 264,42925 X_2 + 778,47808 X_3 - 660,7 X_1 X_2 - 8,93901E+005 X_1^2 - 6,78812 X_2^2 - 7,18812 X_3^2$. Dari kedua persamaan tersebut diketahui bahwa variabel rasio bahan baku terhadap pelarut paling mempengaruhi respon rendemen dan total tanin. Hasil verifikasi nilai respon rendemen dan total tanin berturut-turut adalah 11,0208% dan 881,174 mg GAE/g, dan dibanding prediksi dari program menghasilkan perbedaan berturut-turut 4,6257% dan 0,184%. Ekstrak perlakuan terbaik juga diukur warna dengan color reader yang menunjukkan ekstrak mempunyai tingkat kecerahan ($L^* = 22,2$) dan mengandung warna merah ($a^* = +6,5$) dan warna kuning ($b^* = +7,9$), sehingga gabungan warna ini menghasilkan warna yang terlihat oleh mata adalah warna coklat.

Kata Kunci : *Box Behnken Design, Microwave Assisted Extraction, Pewarna Alami, Response Surface Methodology*

**OKTAVIAN FAJAR RAHMAN 135100307111015.
OPTIMIZATION EXTRACTION OF NATURAL DYE FROM
AVOCADO LEAF (*Persea americana* Mill.) USING RESPONSE
SURFACE METHODOLOGY (RSM) (Study of the Ratio of Raw
Materials to Solvent, Extraction Time and Extraction
Temperature). Minor Thesis. Supervisor : Mas'ud Effendi
STP., MP. and Beauty Suestining Diyah Dewanti, ST.. MT.**

SUMMARY

Color is one of the factors considered in the production of food, textiles and cosmetics. Most of the coloring process uses synthetic dyes, the negative impact of synthetic dye waste is harmful to the environment and ecosystem. One alternative natural dye comes from avocado leaf to produce a brown color. The purpose of this research is to determine the ratio of raw material to solvent, extraction time and optimum extraction temperature in natural dye extraction of avocado leaf to the quantity and quality of natural dye.

The study used Microwave Assisted Extraction (MAE) with 96% (technical) ethanol solvent. The optimization of the extraction conditions using the RSM method with the design of three variables is Box Behnken Design. The variable is ratio of raw material to solvent (X_1) (0.02, 0.04, 0.06), extraction time (X_2) (10 minutes, 15 minutes, 20 minutes) and extraction temperature (X_3) (50 ° C; 55 ° C; 60 ° C). The optimized response are yield and total tannin content.

The result of this research is the best treatment on the ratio of raw material to solvent, the extraction time and extraction temperature are 0.05; 20 minutes and 57.15 ° C. The lowest and highest yield responses are 6.285% and 12.08%. The lowest and highest total tannin content responses are 267.43 mg GAE/g and 1067.43 mg GAE/g. Based on the three criteria of model selection analysis are Sequential Model of Sum of Squares, Lack of Fit and Model Summary Statistic on the yield response and total tannins content selected quadratic model. Based on the analysis of variance (ANOVA) the yield response obtained by quadratic

equation is $Y_1 = 48,06125 + 365,49583 X_1 - 3,67723 X_2 - 0,79039 X_3 + 0,04648 X_2 X_3 + 0,034883 X_2^2$ and quadratic equation of total tannin response $Y_2 = -23884,035 + 65975,333 X_1 + 264,42925 X_2 + 778,47808 X_3 - 660,7 X_1 X_2 - 8,93901E+005 X_1^2 - 6,78812 X_2^2 - 7,18812 X_3^2$. From both equations it is known that the ratio of raw material to solvent is the most influence yield and total tannins responses. The results of the verification of the yield response and total tannins responses are 11.0208% and 881,174 mg GAE/g, and compared to the prediction of the program yielded the difference of 4.6257% and 0.184%. The best treatment extract was also measured in color with a color reader that showed the extract had a brightness level ($L^* = 22.2$) and red ($a^* = +6,5$) and yellow ($b^* = +7.9$), so this combined color produces a color that is visible to the eye is a brown color.

Key words : Box Behnken Design, Microwave Assisted Extraction, Natural Dyes, Response Surface Methodology

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, Puji syukur kepada Allah SWT atas segala Rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul Optimasi Ekstraksi Pewarna Alami dari Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) menggunakan Metode *Response Surface Methodology* (RSM) (Kajian Rasio Bahan Baku terhadap Pelarut, Lama Ekstraksi dan Suhu Ekstraksi) dengan baik. Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam proses penulisan skripsi ini baik secara langsung maupun tidak langsung:

1. Mas'ud Effendi, STP., MP. selaku dosen pembimbing 1 yang telah memberikan bimbingan, arahan, ilmu dan pengetahuan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini secara menyeluruh.
2. Beauty Suestining D. D., ST., MT. selaku dosen pembimbing 2 yang telah memberikan bimbingan, arahan, ilmu dan pengetahuan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini secara menyeluruh
3. Dr. Sucipto, STP., MP. selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran kepada penulis.
4. Laboran Lab. Produksi Intitut Atsiri, laboran Lab. Tekonologi Agrokimia, laboran Lab. Bioindustri.
5. Galuh Dyah Lumintu, yang selalu memberikan dukungan spirit dan moril kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini dengan baik.
6. Keluarga Besar TIP FTP UB 2013 yang telah berjuang bersama melewati masa-masa kuliah, banyak kenangan yang tidak akan terlupakan.

Penyusun menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan untuk kesempurnaan Tugas Akhir ini.

Malang, 14 Februari 2018

Penyusun

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
RINGKASAN	vii
SUMMARY	ix
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Pewarna	5
2.1.1 Pewarna Sintetis	6
2.1.2 Pewarna Alami	6
2.2 Daun Alpukat.....	7
2.3 Tanin	9
2.4 Ekstraksi Tanin.....	11
2.4.1 <i>Microwave Assisted Extraction</i> (MAE)	11
2.5 Pelarut.....	12
2.5.1 Etanol.....	12
2.6 <i>Response Surface Methodology</i> (RSM).....	13
2.7 Penelitian Terdahulu	15
BAB III METODE PENELITIAN	19
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	19
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	19
3.2.1 Alat.....	19
3.2.2 Bahan.....	19
3.3 Metode Penelitian.....	20
3.3.1 Alur Penelitian	22
3.3.2 Batasan Masalah.....	24

3.4	Pelaksanaan Penelitian	24
3.4.1	Ekstraksi Daun Alpukat.....	24
3.5	Pengamatan dan Analisis Data.....	27
3.5.1	Pengamatan.....	27
3.5.2	Analisis Data	27
3.6	Kesimpulan dan Saran	27
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1	Optimasi Rasio Bahan terhadap Pelarut, Lama Ekstraksi dan Suhu Ekstraksi	29
4.2	Analisa Metodologi Permukaan Respon	30
4.2.1	Analisis Pemilihan Model.....	30
4.2.1.1	Pemilihan Model Respon Rendemen	31
4.2.1.1.1	Berdasarkan <i>Sequential Model Sum of Squares</i>	31
4.2.1.1.2	Berdasarkan <i>Lack of Fit</i>	31
4.2.1.1.3	Berdasarkan <i>Model Summary Statistic</i>	32
4.2.1.2	Pemilihan Model Respon Total Tanin.....	32
4.2.1.2.1	Berdasarkan <i>Sequential Model Sum of Squares</i>	32
4.2.1.2.2	Berdasarkan <i>Lack of Fit</i>	34
4.2.1.2.3	Berdasarkan <i>Model Summary Statistic</i>	34
4.2.2	Analisis Ragam (ANOVA).....	36
4.2.2.1	Rendemen	36
4.2.2.2	Total Tanin	37
4.2.3	Respon Rendemen dan Total Tanin.....	38
4.2.3.1	Pengaruh Rasio Bahan terhadap Pelarut, Lama Ekstraksi dan Suhu Ekstraksi terhadap Rendemen.....	38
4.2.3.2	Pengaruh Rasio Bahan terhadap Pelarut, Lama Ekstraksi dan Suhu Ekstraksi terhadap Total Tanin	40
4.2.4	Titik Optimum Respon Rendemen dan Total Tanin	43
4.3	Verifikasi Hasil Optimum.....	45
4.4	Warna Ekstrak Daun Alpukat Perlakuan Terbaik	46
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	49
5.1	Kesimpulan.....	49
5.2	Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA		51
LAMPIRAN		59

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Perbedaan Zat Warna Alami dan Sintetis	5
Tabel 2.2	Senyawa Kimia Daun Alpukat (<i>Persea americana mill</i>) 100 gram.....	8
Tabel 2.3	Sifat-sifat Etanol.....	13
Tabel 3.1	Kombinasi Perlakuan dengan Rancangan Desain Tiga Variabel <i>Box Behnken</i>	22
Tabel 4.1	Data Respon Rendemen dan Total Tanin	29
Tabel 4.2	Solusi Titik Optimum Terpilih Hasil Perhitungan <i>Design Expert</i>	44
Tabel 4.3	Perbandingan Antara Hasil Optimasi dengan Hasil Verifikasi	45
Tabel 4.4	Hasil Pengukuran Intensitas Warna Ekstrak Daun Alpukat dengan <i>Color Reader</i>	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur Inti Tanin	9
Gambar 2.2	Sifat-sifat Etanol.....	13
Gambar 2.3	<i>Box Behnken Design</i> dengan $K=3$	14
Gambar 3.1	Diagram Alir Kerja Penelitian	23
Gambar 3.2	Diagram Alir Pembuatan Ekstrak Pewarna Alami dari Daun Alpukat	26
Gambar 4.1	Kurva <i>Normal Plot of Residuals</i> terhadap Respon Rendemen.....	38
Gambar 4.2	<i>Countur Plot</i> Variabel Rasio Bahan terhadap Pelarut dan Lama Waktu Ekstraksi terhadap Respon Rendemen.....	39
Gambar 4.3	Grafik Interaksi Variabel Rasio Bahan terhadap Pelarut dan Lama Waktu Ekstraksi terhadap Respon Rendemen.....	40
Gambar 4.4	Kurva <i>Normal Plot of Residuals</i> terhadap Respon Total Tanin	41
Gambar 4.5	<i>Countur Plot</i> Variabel Rasio Bahan terhadap Pelarut dan Lama Waktu Ekstraksi terhadap Respon Total Tanin	42
Gambar 4.6	Grafik Interaksi Variabel Rasio Bahan terhadap Pelarut dan Lama Waktu Ekstraksi terhadap Respon Total Tanin	42
Gambar 4.7	Kurva Permukaan Respon Titik Optimum	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Analisa Kadar Rendemen	59
Lampiran 2.	Analisa Kadar Tanin	61
Lampiran 3.	Tabel <i>Sequential Model Sum of Squares</i> Respon Rendemen.....	63
Lampiran 4.	Tabel <i>Lack of Fit</i> Respon Rendemen	64
Lampiran 5.	Tabel <i>Model Summary Statistics</i> Respon Rendemen.....	65
Lampiran 6.	Tabel Analisis Ragam (ANOVA) Respon Rendemen.....	66
Lampiran 7.	Tabel <i>Sequential Model Sum of Squares</i> Respon Total Tanin	67
Lampiran 8.	Tabel <i>Lack of Fit</i> Respon Total Tanin.....	68
Lampiran 9.	Tabel <i>Model Summary Statistics</i> Respon Total Tanin	69
Lampiran 10.	Tabel Analisis Ragam (ANOVA) Respon Total Tanin	70
Lampiran 11.	Solusi Optimum <i>Software Design Expert 7.0.0</i>	71
Lampiran 12.	Tabel Verifikasi Hasil Optimum	72
Lampiran 13.	Pembacaan Warna pada Perlakuan Terbaik ...	73
Lampiran 14.	Dokumentasi Penelitian.....	74

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Warna adalah salah satu faktor yang perlu diperhatikan dalam proses produksi oleh industri makanan, tekstil dan kosmetik. Sebagian besar pewarnaan tekstil dan kosmetik masih menggunakan pewarna sintetis. Penggunaan pewarna sintetis menjadi pilihan utama karena harganya yang murah, warna yang dihasilkan lebih cerah dan stabil dibandingkan pewarna alami. Namun penggunaan pewarna sintetis yang mengandung bahan kimia dapat membahayakan dan limbahnya dapat mencemari lingkungan, sehingga perlu penanganan tertentu yang harus dilakukan oleh produsen tekstil dan kosmetik untuk mengolah limbahnya. Pemanfaatan zat warna alami untuk tekstil menjadi salah satu alternatif pengganti zat pewarna berbahan kimia. Menurut Wu *et al.* (2009), di beberapa negara maju penggunaan zat pewarna alami sudah digalakkan, produk pewarna alami yang dapat digunakan dalam berbagai aplikasi termasuk minuman, makanan, obat-obatan, suplemen diet, kosmetik, barang kerajinan maupun pakan ternak.

Berdasarkan sumbernya, pewarna dibagi menjadi 2 jenis yaitu pewarna alami dan pewarna sintetis (Cahyadi, 2008). Beberapa sumber daya alami yang dapat dimanfaatkan untuk zat warna alami yaitu kulit buah naga menghasilkan ekstrak warna merah (Sudarmi *et al.*, 2015), daun indigofera menghasilkan ekstrak warna biru (Kasmudjo, 2010), daun suji menghasilkan ekstrak warna hijau (Putri *et al.*, 2005), daun jati menghasilkan ekstrak warna merah kecoklatan (Fathinatullabibah *et al.*, 2014), daun alpukat menghasilkan menghasilkan warna cokelat (Lestari, 2014). Berdasarkan data dari UNINDO (Organisasi Pengembangan Industri Perserikatan Bangsa-Bangsa) pada tahun 2006 permintaan pewarna alami dunia lebih dari 100.000 ton dan dapat dipastikan akan terus meningkat dari tahun ke tahun (Failisnur dan Sofyan, 2014). Dari uraian tersebut diketahui bahwa pemanfaatan pewarna alami sangat besar untuk menggantikan pewarna sintetis.

Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill) merupakan salah satu tanaman yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Daerah penghasil alpukat terbesar di Indonesia adalah Sumatera Barat, Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Nusa Tenggara Timur, dan Sulawesi Selatan. Pada tahun 2014, hasil produksi buah alpukat di Indonesia sebesar 307.318 ton dengan luas panen 24.200 hektar (Dirjen Hortikultura, 2015). Salah satu bagian dari tanaman yang dapat dimanfaatkan adalah daunnya. Di dalam ekstrak daun alpukat terdapat beberapa kandungan senyawa kimia yaitu senyawa saponin, tanin, flavonoid, alkaloid, dan polisakarida melalui uji fitokimia (Antia *et al.*, 2005). Tanin sebagai zat pewarna akan membentuk warna coklat (Lestari, 2014). Pengambilan tanin dari suatu senyawa dapat dilakukan dengan cara ekstraksi.

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Mukhriani, 2014). Ekstraksi zat warna dari daun alpukat telah dilakukan dengan menggunakan proses konvensional misalnya dengan refluks, soxhletasi dan maserasi. Meskipun proses tersebut cukup efektif, namun proses ekstraksi dengan cara konvensional memerlukan waktu yang lebih lama. Pada penelitian ini digunakan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) dimana metode ini merupakan ekstraksi yang memanfaatkan radiasi gelombang mikro untuk mempercepat ekstraksi selektif melalui pemanasan pelarut secara cepat dan efisien (Jain *et al.*, 2009). Gelombang mikro mengurangi aktivitas enzimatis yang merusak senyawa target (Salas *et al.*, 2010). MAE dapat meningkatkan efisiensi dan efektivitas ekstraksi bahan aktif berbagai jenis rempah, tanaman herbal dan buah-buahan (Calinescu *et al.*, 2001).

Salah satu faktor yang mempengaruhi ekstraksi zat warna yaitu jenis pelarut atau larutan pengestraksi. Larutan pengestraksi yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang diinginkan. Menurut prinsip *like dissolve like*, pelarut akan cenderung melarutkan senyawa dengan tingkat kepolaran yang sama. Menurut Artati dan Fadilah (2007), tanin termasuk golongan senyawa polifenol dengan sifat polar dan

dapat larut dalam gliserol, alkohol dan hidroalkaholik, air dan aseton. Pada penelitian ini digunakan pelarut etanol 96%.

Ekstraksi tanin yang baik adalah pada suhu 60°C - 80°C. Tidak digunakan suhu lebih dari 80°C karena tanin tidak tahan dengan pemanasan yang terlalu tinggi (Oematan, 2015). Faktor lama ekstraksi juga merupakan faktor yang harus diperhatikan dalam proses ekstraksi tanin. Menurut Jatmikoningtyas (2001), waktu ekstraksi pada proses pembuatan ekstrak daun alpukat sangat mempengaruhi jumlah kandungan tanin yang didapat. Proses ekstraksi tanin yang terlalu lama akan mengakibatkan rusaknya pigmen pada tanin, sedangkan proses ekstraksi yang terlalu singkat akan menghasilkan kandungan tanin yang kurang optimal. Oleh karena itu perlu dikaji waktu ekstraksi yang optimal sehingga menghasilkan ekstrak daun alpukat yang baik dari segi kuantitas dan kualitas.

Dalam desain eksperimen, sebuah eksperimen didesain untuk mengestimasi interaksi yang terjadi bahkan interaksi dengan derajat lebih tinggi. Selain itu, dalam sebuah eksperimen diharapkan mendapatkan solusi dari suatu eksperimen sehingga diperoleh keuntungan yang memuaskan. Dengan alasan inilah metode *Response Surface Methodology* (RSM) bisa digunakan. Menurut Muhandri dkk (2011), *Response Surface Methodology* (RSM) merupakan teknik statistik dan matematik yang digunakan untuk pengembangan, perbaikan, dan optimasi proses dalam respon utama yang diakibatkan oleh beberapa variabel dan tujuannya adalah optimasi respon tersebut. Kelebihan penggunaan metode RSM yaitu dapat membantu menemukan nilai optimum untuk respon di luar atau di dalam tingkat faktor yang disarankan oleh peneliti serta mengidentifikasi arah yang optimal (Raykundaliya dan Shanubhogue, 2015).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah berapa rasio bahan baku terhadap pelarut, lama ekstraksi, dan suhu ekstraksi yang optimal dalam ekstraksi pewarna alami daun alpukat terhadap kuantitas dan kualitas pewarna alami?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu menentukan berapa rasio bahan baku terhadap pelarut, lama ekstraksi, dan suhu ekstraksi yang optimal dalam ekstraksi pewarna alami daun alpukat terhadap kuantitas dan kualitas pewarna alami.

1.4 Manfaat

Dari pelaksanaan penelitian ini diharapkan dapat diperoleh manfaat sebagai berikut:

1. Memberikan informasi tentang kondisi ekstraksi pewarna alami yang optimal.
2. Memanfaatkan dan mengembangkan potensi bahan alami sebagai pewarna alami.
3. Menambah nilai manfaat dan ekonomi daun alpukat.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pewarna

Zat warna merupakan suatu zat aditif yang ditambahkan pada beberapa produk industri. Warna merupakan faktor penting yang pertama kali dilihat oleh konsumen yang juga berperan sebagai sarana untuk memperkuat tujuan dan aspek identitas suatu produk. Penggunaan zat warna sudah semakin luas terutama dalam makanan, minuman maupun tekstil (Winarti dkk., 2008). Berdasarkan sumbernya, pewarna dibagi menjadi 2 jenis yaitu pewarna alami dan pewarna sintetis (Cahyadi, 2008). Zat pewarna alami merupakan zat warna yang berasal dari tumbuhan atau buah-buahan. Sementara pewarna sintetis merupakan zat warna yang dihasilkan dari bahan kimia. Umumnya pewarna alami aman untuk digunakan dalam jumlah yang besar sekalipun, berbeda dengan pewarna sintetis yang penggunaannya harus dibatasi (Yuliarti, 2007). Perbedaan zat warna alami dan sintetis dapat dilihat pada **Tabel 2.1**.

Tabel 2.1 Perbedaan Zat Warna Alami dan Sintetis

Perbedaan	Zat warna alami	Zat warna sintetis
Warna yang dihasilkan	Lebih pudar dan tidak homogen	Lebih cerah dan homogen
Variasi warna	Sedikit	Banyak
Harga	Lebih mahal	Lebih murah
Ketersediaan	Terbatas	Tidak terbatas
kestabilan	Kurang stabil	Stabil

Sumber: Lee (2005).

Mutu pewarna terutama ditentukan oleh kekekalan warnanya. Pewarna alami yang digunakan untuk mewarnai tekstil dapat dikelompokkan menjadi empat tipe menurut sifat-sifat yang menentukan manfaatnya yaitu (Agriawati, 2003):

1. Pewarna langsung, pewarna yang mudah luntur.
2. Pewarna asam dan basa, pewarna yang tidak dapat digunakan pada kain katun karena menghasilkan warna yang tidak kekal .
3. Pewarna lemak, dapat ditimbulkan kembali pada serat melalui proses redoks.

4. Pewarna mordant, dapat mewarnai tekstil yang telah diberi mordan berupa senyawa metal polivalen.

2.1.1 Pewarna Sintetis

Pewarna sintesis diperoleh melalui proses sintesis kimia buatan yang mengandalkan bahan kimia, atau dari yang mengandung pewarna alami melalui ekstraksi secara kimiawi. Kelebihan pewarna sintesis adalah dapat menghasilkan warna lebih kuat meskipun jumlah pewarna yang digunakan sedikit. Selain itu, biarpun telah mengalami proses pengolahan dan pemanasan, warna yang dihasilkan dari pewarna sintesis akan tetap cerah (Cahyadi, 2009).

Penerapan pewarna sintetis pada tekstil mempunyai banyak kelebihan dalam hal kualitas pewarnaan yang baik. Namun limbah hasil proses pewarnaan tekstil memiliki dampak negatif terhadap lingkungan. Oleh karena itu perusahaan tekstil yang menggunakan pewarna sintetis dalam proses pewarnaannya harus mengeluarkan biaya besar untuk mengolah limbah proses pewarnaan tekstil agar tidak mencemari lingkungan (Kismolo, 2000). Proses pembuatan pewarna sintesis dengan cara memberikan asam sulfat atau asam nitrat yang sering kali terkontaminasi oleh logam berat yang bersifat beracun. Untuk zat pewarna yang dianggap aman, ditetapkan bahwa kandungan arsen tidak boleh lebih dari 0,0001%, sedangkan logam berat lainnya tidak boleh ada (Cahyadi, 2008).

2.1.2 Pewarna Alami

Zat warna alam (pigmen) adalah zat warna yang secara alami terdapat dalam tanaman ataupun hewan. Zat warna alami dapat dikelompokkan sebagai warna hijau, kuning, merah (Firdaus, 2010). Beberapa pewarna alami yang berasal dari tanaman dan hewan, diantaranya adalah klorofil, miogloblin dan hemoglobin, antosianin, flavonoid, tanin, betalanin, quinon dan xanthon serta karotenoid (Cahyadi, 2009).

Pewarna alam untuk bahan tekstil pada umumnya diperoleh dari hasil ekstrak berbagai tumbuhan seperti akar, kayu, daun, biji atau bunga. Pengrajin batik telah banyak mengenal beberapa tumbuhan yang dapat mewarnai bahan tekstil diantaranya adalah daun pohon nila (*indigofera*), kulit soga

tinggi (*Ceriops candolleana* Arn), kayu tegeran (*Cudrains javanensis*), kunyit (*Curcuma*), akar mengkudu (*Morinda citrifolia*), kulit soga jambal (*Pelthophorum ferruginum*), kesumba (*Bixa orellana*), daun jambu biji (*Psidium guajava*) (Fitrihana, 2007). Selain itu daun alpukat juga dapat digunakan untuk pewarna alam bahan tekstil dengan menghasilkan warna cokelat. Ekstrak daun alpukat berwarna cokelat karena kandungan senyawa tanin didalamnya. Penggunaan tanin sebagai pewarna yaitu sebagai mordant biasanya dilakukan dengan dikombinasi dengan bahan logam tertentu. Prabhu dan Teli (2011) mengekstraksi tanin dari asam jawa sebagai mordant alami yang dicampur dengan tembaga sulfat sebagai bahan pewarna alami pada bahan katun, wol dan kain sutra. Kekuatan warna mordant ini lebih tahan luntur jika dibandingkan dengan pencelupan pewarna alami tanpa mordant.

2.2 Daun Alpukat

Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill) merupakan tanaman buah berupa pohon. Tanaman alpukat berasal dari dataran rendah Amerika Tengah dan diperkirakan masuk ke Indonesia pada abad ke-18 (Putri *et al.*, 2016). Tanaman alpukat berbentuk pohon berkayu yang tumbuh menahun (*perennial*). Ketinggian tanaman antara 3 meter - 10 meter, batang berlekuk-lekuk dan bercabang banyak, serta berdaun rimbun. Daun alpukat berwarna hijau tua, berbentuk runcing sampai agak melebar, sepanjang 10 cm - 20 cm, daun-daun muda berwarna agak kemerah-merahan atau merah anggur. Batangnya alpukat bercabang rendah dengan tajuk pohon berdaun rapat. Tanaman alpukat tergolong tanaman yang berbunga banyak. Bunga alpukat memiliki sifat yang disebut dikogami yaitu putik dan benang pada bunga masak secara tidak bersamaan (Rukmana, 1997).

Taksonomi tanaman alpukat dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Rukmana, 1997) :

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Spermatophyta*

Subdivisi : *Angiospermae*
 Kelas : *Dicotyledonae*
 Ordo : *Laurales*
 Famili : *Lauraceae*
 Genus : *Persea*
 Spesies : *Persea americana Mill*

Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill) merupakan salah satu tanaman yang memiliki manfaat sebagai obat tradisional. Hampir semua bagian dari tanaman ini memiliki khasiat sebagai sumber obat-obatan. Bagian buah famili *Lauraceae* ini memiliki kandungan gizi yang tinggi, bagian daun digunakan untuk ramuan obat penyakit ginjal, hipertensi. Daun merupakan bagian tanaman alpukat yang memiliki manfaat sebagai obat tradisional (Owolabi *et al.*, 2010). Kandungan zat aktif yang terdapat di daun alpukat (*Persea americana* Mill) adalah saponin, tanin flavonoid, glukosida sianogenik, alkaloid, fenol, steroid. Senyawa kimia daun alpukat dapat dilihat pada **Tabel 2.2**.

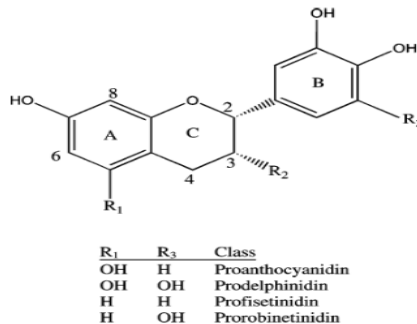
Tabel 2.2 Senyawa Kimia Daun Alpukat (*Persea americana mill*) 100

Senyawa Kimia	Kadar per 100 gram
Saponin	1.29±0.08
Tanin	0.68±0.06
Flavonoid	8.11±0.14
Glukosida Sianogenik	0.06±0.02
Alkaloid	0.51±0.21
Fenol	3.41±0.64
Steroid	1.21±0.14

Sumber : Arukwe *et al.* (2009).

2.3 Tanin

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Desmiaty *et al.*, 2008). Tanin secara ilmiah didefinisikan sebagai senyawa polifenol yang mempunyai berat molekul tinggi dan mempunyai gugus hidroksil dan gugus lainnya (seperti karboksil) sehingga dapat membentuk kompleks dengan protein (Danarto *et al.*, 2011). Menurut teori warna, struktur tanin dengan ikatan rangkap dua yang terkonjugasi pada polifenol sebagai kromofor (pengemban warna) dan adanya gugus OH sebagai auksokrom (pengikat warna) dapat menyebabkan warna coklat (Wijaya *et al.*, 2011). Struktur inti tanin dapat dilihat pada **Gambar 2.1**.



Gambar 2.1 Struktur Inti Tanin (Schofield *et al.*, 2001).

Tanin memiliki bobot molekul mulai dari 500 sampai lebih dari 20.000. Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis (*hydrolyzable tannin*) dan tanin terkondensasi (*condensed tannin*) (Schofield *et al.*, 2001). Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkkelat logam. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Hagerman, 2002).

Sifat utama tanin tumbuh-tumbuhan tergantung pada gugusan fenolik-OH yang terkandung dalam tanin. Sifat tersebut secara garis besar dapat diuraikan sebagai berikut (Ismarani, 2012):

a. Sifat Kimia Tanin

- 1) Tanin memiliki sifat umum , yaitu memiliki gugus phenol dan bersifat koloid, sehingga jika terlarut dalam air bersifat koloid dan asam lemah.
- 2) Umumnya tanin dapat larut dalam air. Kelarutannya besar dan akan meningkat apabila dilarutkan dalam air panas. Begitu juga tanin akan larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol. Aseton dan pelarut organik lainnya.
- 3) Tanin akan terurai menjadi pyrogallol, pyrocatechol dan phloroglucinol bila dipanaskan sampai suhu 210°F-215°F (98,9°C-110,67°C).
- 4) Tanin dapat dihidrolisa oleh asam, basa dan enzim.
- 5) Ikatan kimia yang terjadi antara tanin-protein atau polimer-polimer lainnya terdiri dari ikatan hidrogen, ikatan ionik dan ikatan kovalen.

b. Sifat Fisik Tanin

- 1) Umumnya tanin mempunyai berat molekul tinggi dan cenderung mudah dioksidasi menjadi suatu polimer, sebagian besar tanin bentuknya amorf dan tidak mempunyai titik leleh.
- 2) Tanin berwarna putih kekuning-kuningan sampai coklat terang, tergantung dari sumber tanin tersebut.
- 3) Tanin berbentuk serbuk atau berlapis-lapis seperti kulit terang, berbau khas dan mempunyai rasa sepat (astrigent).
- 4) Warna tanin akan menjadi gelap apabila terkena cahaya langsung atau dibiarkan terkena udara terbuka.
- 5) Tanin mempunyai sifat atau daya bakterostatik, fungistatik dan merupakan racun.

2.4 Ekstraksi Tanin

Pengambilan tanin dari suatu senyawa dapat dilakukan dengan cara ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Mukhriani, 2014). Faktor-faktor yang mempengaruhi laju ekstraksi yaitu tipe persiapan sampel, waktu ekstraksi, kuantitas pelarut, suhu pelarut dan tipe pelarut (Utami, 2009). Proses ekstraksi tanin pada umumnya adalah dengan ekstraksi bahan dalam bentuk komponen kecil (rajan, ketan dan serbuk). Ekstraksi dilakukan berulang-ulang dengan air panas (pembusakan) yang dilanjutkan dengan penyaringan dan pengeringan. Sehingga ekstrak yang didapat berupa cairan dan padatan (Kasmudjo, 2010).

2.4.1 *Microwave Assisted Extraction (MAE)*

Pada penelitian ini metode yang digunakan yaitu *Microwave Assisted Extraction* (MAE). MAE merupakan ekstraksi yang memanfaatkan radiasi gelombang mikro untuk mempercepat ekstraksi selektif melalui pemanasan pelarut secara cepat dan efisien (Jain *et al.*, 2009). Gelombang mikro mengurangi aktivitas enzimatis yang merusak senyawa target (Salas *et al.*, 2010). MAE dapat meningkatkan efisiensi dan efektivitas ekstraksi bahan aktif berbagai jenis rempah, tanaman herbal dan buah-buahan (Calinescu *et al.*, 2001). Gelombang mikro mengurangi jauh aktivitas enzimatis yang merusak senyawa target sehingga pemanasan dengan MAE memiliki kelebihan pemanasan yang lebih merata karena bukan mentransfer panas dari luar tetapi membangkitkan panas dari dalam bahan tersebut. Selain itu waktu pemanasan dengan gelombang mikro jauh lebih cepat jika dibandingkan dengan waktu reaksi pemanasan konvensional (Saleh *et al.*, 2005).

Berdasarkan penelitian Rafiee *et al.* (2011), metode ekstraksi dengan MAE merupakan metode yang efektif dibandingkan dengan maserasi karena menghasilkan rendemen senyawa yang lebih banyak, suhu lebih rendah, dan waktu yang singkat pada ekstraksi senyawa fenol. Hal ini diperkuat dengan penelitian Widoretno *et al.* (2016) yang membandingkan *recovery* pada ekstraksi zat warna kayu nangka metode MAE dengan

metode soxhletasi bahwa nilai akumulasi recovery untuk zat warna alami dengan pelarut etanol 96% sebesar 60,41%. Sedangkan pada metode soxhletasi nilai akumulasi recovery untuk zat warna alami dengan pelarut etanol 96% sebesar 4,46%.

2.5 Pelarut

Pelarut adalah benda cair atau gas yang melarutkan benda padat, cair atau gas yang menghasilkan sebuah larutan. Pelarut yang paling umum ditemui di kehidupan sehari-hari adalah air. Untuk membedakan antara pelarut dengan zat yang dilarutkan, pelarut biasanya terdapat dalam jumlah yang lebih besar (Lazuardi, 2010).

Suatu pelarut dikatakan sesuai sebagai pelarut pengekstraksi bila memenuhi syarat-syarat berikut (Melwita, 2014) :

1. Selektivitas
Pilih pelarut yang selektifnya sesuai dengan polaritas senyawa yang akan diekstrak agar didapatkan ekstrak yang lebih murni
2. Reaktivitas
Pelarut tidak boleh menyebabkan adanya perubahan secara kimia pada komponen bahan ekstrak
3. Titik didih
Pelarut harus mempunyai titik didih yang cukup rendah agar pelarut mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu tinggi
4. Murah dan mudah didapatkan
Pilihlah pelarut yang harganya murah dan mudah diperoleh
5. Tidak korosif dan tidak mudah terbakar
Pelarut yang digunakan tidak boleh bersifat korosif, agar peralatan tidak korosi

2.5.1 Etanol

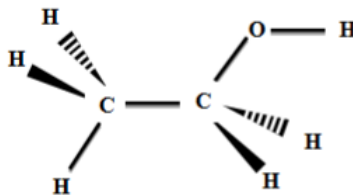
Etanol (C_2H_5OH) merupakan zat cair, tidak berwarna, berbau spesifik, mudah terbakar dan menguap, dapat bercampur dalam air dengan segala perbandingan. Secara garis besar penggunaan etanol adalah sebagai pelarut untuk zat organik maupun anorganik, bahan dasar industri asam cuka, ester, spirtus, asetaldehid, antiseptik dan sebagai bahan baku

pembuatan eter dan etil ester (Wiratmaja, 2011). Etanol dapat larut dalam air dan banyak pelarut organik (Lazuardi, 2010). Sifat-sifat etanol disajikan dalam **Tabel 2.3**. Struktur molekul etanol dapat ditunjukkan pada **Gambar 2.2**

Tabel 2.3 Sifat-sifat Etanol

Karakteristik	Etanol
Nama lain	Etil alkohol, grain alkohol
Rumus kimia	C_2H_5OH
Berat molekul	46
Densitas	$0,789 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$
Titik didih	$78,5^\circ\text{C}$
Titik leleh	$-114,1^\circ\text{C}$

Sumber : Wiratmaja (2011).



Gambar 2.2 Struktur Molekul Etanol (Wiratmaja, 2011).

2.6 Response Surface Methodology (RSM)

Perancangan eksperimen statistika merupakan suatu proses perencanaan eksperimen untuk memperoleh data yang tepat sehingga dapat dianalisa dengan metode statistik serta kesimpulan yang diperoleh dapat bersifat objektif dan valid. Salah satu metode perancangan eksperimen yang digunakan untuk mengetahui kondisi optimal adalah *Response Surface Methodology* (RSM). Metode ini menggabungkan teknik matematika dengan teknik statistika yang digunakan untuk membuat dan menganalisa suatu respon Y yang dipengaruhi oleh beberapa variabel bebas atau faktor X guna

mengoptimalkan respon tersebut. Hubungan antara respon Y dan variabel bebas dapat dirumuskan sebagai berikut (Rahardjo, 2002):

$$Y = f(X_1, X_2, X_3, \dots, X_k) + \hat{a}$$

dimana :

Y = variabel respon

X_i = variabel bebas/faktor ($i = 1, 2, 3, \dots, k$)

\hat{a} = error

Hubungan antara Y dan X_i dapat dicari menggunakan *first order models* dan *second order models*, dimana *first order models* digunakan untuk mencari daerah optimal dan *second order models* digunakan untuk mencari titik optimal. Hubungan antara Y dan X_i untuk model orde pertama dapat ditulis sebagai berikut (Rahardjo, 2002):

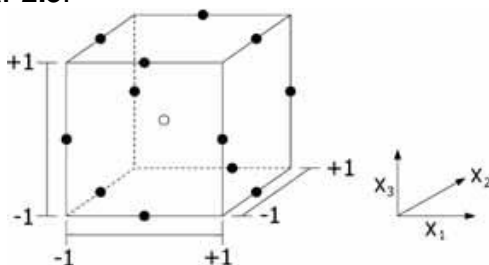
$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + \dots + b_kX_k + \epsilon$$

Sementara untuk model orde kedua dapat ditulis sebagai berikut:

$$Y = \hat{a}_0 + \sum_{i=1}^k \hat{a}_i X_i + \sum_{i=1}^k \hat{a}_i x_i^2 + \sum_{i < j}^{k-1} \sum_{j=2}^k \hat{a}_{ij} X_i X_j + \hat{a}_0$$

dimana \hat{a} = koefisien regresi

Desain eksperimen menjadi faktor kunci keberhasilan penerapan metode permukaan respon. *Box Behnken Design* (BBD) adalah desain tiga tingkat yang efektif berdasarkan pada pembangunan desain box lengkap seimbang dan merupakan alternatif untuk CCD. BBD membutuhkan 3 tingkat untuk setiap faktornya (Kun dan Ming, 2009). BBD dengan $k=3$ dapat dilihat pada **Gambar 2.3**.



Gambar 2.3 Box-Behnken Design dengan $K=3$ (Kun dan Ming, 2009)

Secara umum, tahapan dalam penelitian optimasi menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) yaitu : (1) membuat rancangan formulasi dan respon berdasarkan desain eksperimen yang dipilih, (2) tahapan formulasi, melakukan proses penelitian sesuai kondisi formula yang sudah ditetapkan, (3) melakukan analisis respon, dan (4) melakukan optimasi dilanjutkan dengan verifikasi sebagai pembuktian terhadap prediksi nilai respon solusi formula optimum (Nurmiah *et al.*, 2013). Pada analisis respon, setiap variabel respon dianalisa ANOVA satu per satu, program akan memberikan saran untuk memilih model ANOVA yang memiliki tingkat tertinggi dan menghasilkan nilai signifikansi ANOVA. Beberapa model ANOVA yang terdapat di desain ini adalah : *Linear*, *Quadratic*, *Special Cubic*, dan *Cubic*. Model ANOVA yang dinyatakan signifikan dan *lack of fit test* yang tidak signifikan akan dipilih untuk menganalisis variabel (Kumari *et al.*, 2008).

Setiap respon akan ditentukan tujuan optimasinya dalam program. Optimasi dilakukan berdasarkan *input* data variabel dan data pengukuran respon. Sedangkan *output* dari tahap optimasi berupa rekomendasi beberapa formula baru yang optimal menurut program. Formula dengan nilai *desirability* maksimum dapat dikatakan formula yang paling optimal. Nilai *desirability* berkisar antara 0,1 sampai 1,0, yang berarti kemampuan program untuk menghasilkan produk yang dikehendaki semakin sempurna (Raissi dan Farzani, 2009). Tahapan selanjutnya adalah verifikasi yaitu melakukan percobaan di laboratorium sesuai dengan formulasi terbaik yang didapatkan dari hasil optimasi RSM. Verifikasi dilakukan dengan dua kali ulangan. Hasil yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan nilai variabel respon yang diprediksi oleh RSM yang telah dilengkapi dengan prediksi nilai setiap respon sehingga dapat dilihat kesesuaiannya pada tahapan verifikasi (Anihouvi *et al.*, 2011).

2.7 Penelitian Terhadap

Berdasar penelitian Lestari (2014), mengetahui pengaruh proporsi pelarut dan waktu ekstraksi yang digunakan terhadap kuantitas dan kualitas pewarna alami dari daun alpukat. Metode penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK)

dengan 2 faktor yaitu proporsi pelarut etanol 95% dan aseton dengan perbandingan 3:0; 3:1; 3:2 dan faktor kedua adalah waktu ekstraksi (150 menit dan 180 menit). Hasil perlakuan terbaik dengan penentuan metode *Multiple Attribute*, yaitu pada perlakuan proporsi etanol 95% : aseton = 3 : 0 dan waktu ekstraksi 180 menit dengan karakteristik rendemen sebesar 68,07%; pH sebesar 4,49; total tanin sebesar 22,07% dan absorbansi 0,86. Pada pengukuran dengan spektrofotometer dihasilkan panjang gelombang 614 nm. Ekstrak perlakuan terbaik juga dilakukan pengukuran warna dengan *color reader* yang menghasilkan nilai $L^* = 25,5$ dan menunjukkan ekstrak mengandung warna merah ($a^* = +11$) dan kuning ($b^* = +17$), sehingga gabungan warna ini menghasilkan warna yang terlihat oleh mata berwarna cokelat.

Berdasar penelitian Widoretno *et al.* (2016), mengekstraksi pewarna alami kayu nangka dengan pelarut etanol sebagai alternatif pewarna alami pada tekstil dengan menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE). Penelitian ini menggunakan serbuk kayu nangka dengan ukuran 35-60 mesh. Proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 200 mL. Ekstraksi dilakukan dengan metode MAE dengan kondisi operasi yang berbeda yaitu rasio bahan terhadap pelarut (0,02; 0,04; 0,06; 0,08, 0,1 g/mL), daya *microwave* (100, 264, 400, 600, 800 watt), serta waktu ekstraksi (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 menit). Didapatkan hasil yield optimum sebesar 3,39% pada daya 400 watt, 3,67% pada rasio bahan terhadap pelarut 0,02 g/mL, 3,49% pada waktu ekstraksi 30 menit dengan daya 600 watt.

Berdasar penelitian Handayani *et al.* (2014), mendapatkan kondisi ekstraksi ampas teh hijau menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) yang paling efektif sehingga dihasilkan ekstrak teh hijau yang mempunyai antioksidan optimum. Ekstraksi dilakukan dengan metode MAE dengan kondisi operasi yang berbeda yaitu variasi daya *microwave* (90, 270, 450, 630, dan 900 watt), variasi pelarut (akuades, etanol 30%, etanol 60%, dan etanol 90%), variasi perbandingan simplisia dengan pelarut (1:8, 1:10, 1:12, dan 1:14), dan variasi waktu (2, 4, 6, 8, dan 10 menit). Didapatkan kondisi optimum MAE adalah daya 450 watt, pelarut etanol 60%,

perbandingan simplisia dengan pelarut 1:8 dan lama ekstraksi 8 menit untuk menghasilkan ekstrak dengan kadar polifenol optimum. Ekstrak yang diperoleh mempunyai kadar air 7,83%; pH 5,5; dan polifenol total, flavonoid total, asam galat, katekin, EGCG dan kofein berturut-turut adalah 7,1%; 1,04%; 2,76%; 0,83%; 5,18%; dan 1,03%.

Berdasar penelitian Rhazi dkk. (2015), mengetahui pengaruh kondisi ekstraksi pada kandungan polifenol dan tanin terkondensasi dengan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE). Variabel yang digunakan adalah daya ekstraksi (150, 250, 300, 450 dan 600 Watt), waktu ekstraksi dan pelarut organik. Kandungan polifenol tertinggi diperoleh dengan metanol. Proporsi pelarut, waktu ekstraksi, dan daya ekstraksi dioptimasi menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM). Sebuah *Face Central Composite Design* (FCCD) diterapkan untuk mengevaluasi efek dari variabel-variabel ini pada polifenol dan tanin terkondensasi. Untuk setiap percobaan, hasil ekstraksi, kandungan polifenol dan kandungan tanin terkondensasi dihitung menggunakan kolorimetri. Kandungan polifenol diperoleh pada 156 Watt dengan menggunakan 80% metanol selama 5 menit. Sedangkan tanin terkondensasi, kandungan sianidin tertinggi diperoleh pada 182 W dengan menggunakan 20% metanol selama 3,66 menit. RSM diaplikasikan di MAE untuk mengembangkan *Green Extraction Process* menggunakan *microwave* dengan daya rendah dan proporsi metanol dengan waktu ekstraksi tersingkat dan pada saat yang sama meningkatkan ekstrak yang dihasilkan.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Produksi Institut Atsiri, Universitas Brawijaya dan Laboratorium Teknologi Agrokimia, Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya. Pengujian *Color Reader* dilakukan di Laboratorium Kimia dan Biokimia Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya. Analisis data optimasi dilakukan di Laboratorium Komputasi dan Analisis Sistem Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya. Waktu pelaksanaannya dimulai September 2017 sampai dengan Januari 2018.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan untuk pembuatan serbuk daun alpukat adalah tumbukan, grinder, saringan 35 - 60 mesh, timbangan digital, sendok, plastik klip. Alat yang digunakan untuk ekstraksi daun alpukat adalah timbangan digital, gelas ukur, labu ukur, labu alas datar, corong, *beaker glass*, spatula, *aluminium foil*, *microwave*, kertas saring, botol sampel. Alat yang digunakan untuk analisis antara lain timbangan analitik, timbangan digital, *rotary vacuum evaporator*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *beaker glass*, pipet tetes, pipet volume, spatula, *aluminium foil*, *vortex*, labu takar 50 ml, labu takar 10 ml, spektrofotometer, kuvet, dan *color reader*.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan antara lain daun alpukat yang tua (yang dekat dengan pangkal dan berwarna hijau tua), pelarut etanol 96% (teknis). Bahan yang digunakan untuk analisis yaitu akuades, asam galat 100 ppm, pereaksi follin cicalteu, natrium karbonat 35%.

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian menggunakan *Response Surface Methodology* yang bertujuan untuk mencari kadar optimum dari kadar total tanin dan rendemen yang dihasilkan dari ekstraksi daun alpukat. Optimasi kadar total tanin dan rendemen dilakukan menggunakan "*Box Behnken Design*" dengan kombinasi tiga variabel yaitu rasio bahan dan pelarut (X_1), lama waktu ekstraksi (X_2), dan suhu ekstraksi (X_3). Respon yang dioptimasi adalah kadar total tanin dan rendemen. Tiga faktor digunakan untuk *Box Behnken Design* didasarkan pada hasil penelitian sebelumnya yaitu :

X_1 : rasio bahan terhadap pelarut = 0,02 ; 0,04; 0,06

X_2 : lama waktu ekstraksi = 10 menit ; 15 menit ; 20 menit

X_3 : suhu ekstraksi = 50 °C ; 55 °C ; 60 °C

Penelitian ini dibuat dengan langkah-langkah sebagai berikut (Montgomery, 2001):

1. Menentukan model ordo pertama
Menentukan terlebih dahulu desain eksperimen, faktor dan range, tiap-tiap faktor yang akan digunakan kemudian dilakukan percobaan.
2. Uji ketidaksesuaian model ordo pertama
Uji ketidaksesuaian terhadap model ordo pertama dilakukan sebagai dasar untuk melangkah ke arah wilayah titik optimum faktor. Uji ini bertujuan untuk melihat kesesuaian model yang dibangun terhadap data hasil eksperimen.
3. Menentukan model ordo kedua
Adapun langkah-langkah yang diperlukan untuk menemukan model ordo kedua antara lain:
 - a. Melakukan eksperimen dengan *Box Behnken Design* dan uji normalitas data
 - b. Model desain eksperimen data hasil percobaan kemudian dihitung dengan melakukan pendekatan matriks agar diperoleh koefisien model ordo kedua

4. Uji ketidaksesuaian model ordo kedua

Uji ketidaksesuaian terhadap model ordo kedua dilakukan sebagai dasar untuk penentuan titik optimum faktor. Uji ini bertujuan untuk melihat kesesuaian model yang dibangun terhadap data hasil eksperimen.

5. Menentukan model optimasi

6. Menentukan kondisi optimum

Untuk menentukan titik optimum yang diinginkan dalam *Response Surface Methodology* dengan rancangan *Box Behnken Design*, diperlukan juga daerah percobaan yang berada di sekitar titik pusat. Daerah percobaan tersebut terdiri dari 3 taraf dari setiap variabel yang dikode dengan -1, 0, +1. Variabel kode -1 menunjukkan nilai variabel terendah, variabel kode 0 menunjukkan nilai variabel tengah, variabel kode +1 menunjukkan nilai variabel tertinggi dengan range antara -1, 0, +1 harus sama (Montgomery, 2001).

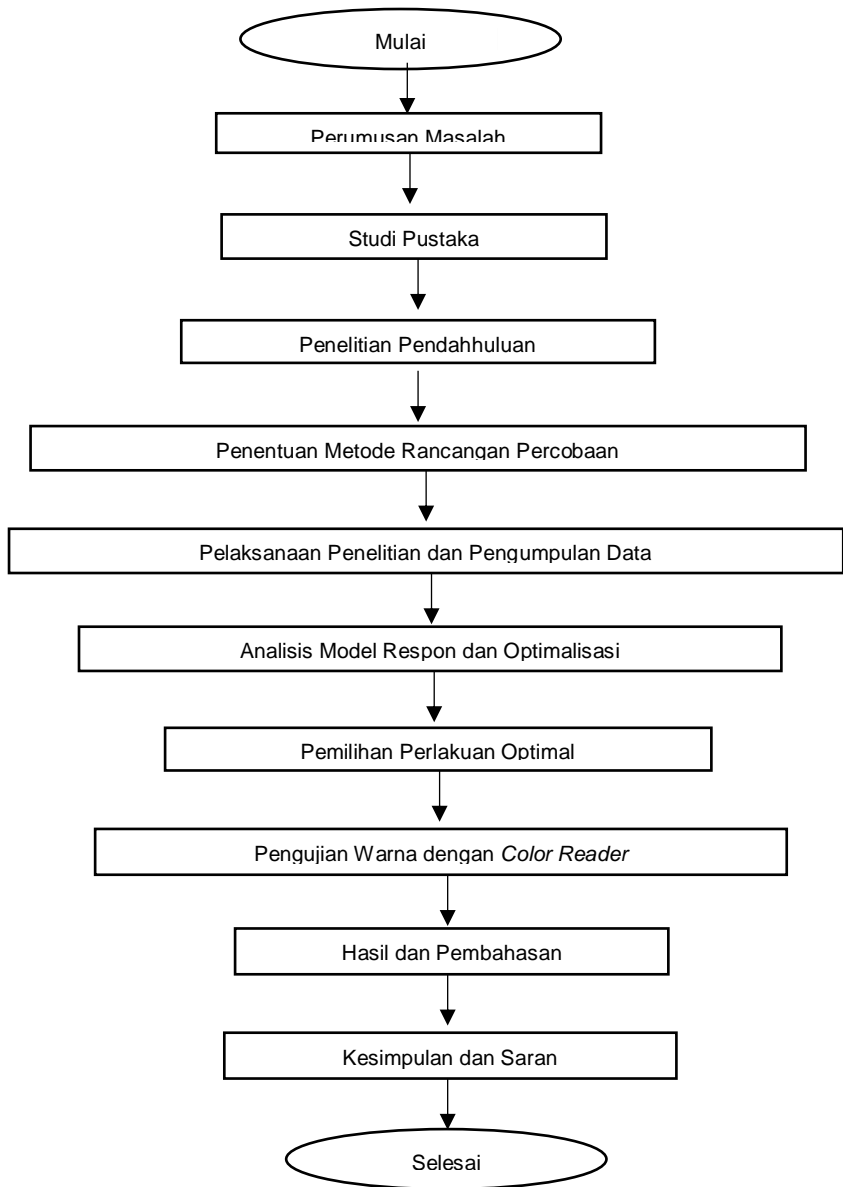
Untuk variabel rasio bahan terhadap pelarut variabel kode -1 menunjukkan rasio bahan terhadap pelarut sebesar 0,02, variabel kode 0 menunjukkan rasio bahan terhadap pelarut sebesar 0,04 dan variabel kode +1 menunjukkan rasio bahan terhadap pelarut sebesar 0,06. Untuk variabel lama waktu ekstraksi variabel kode -1 menunjukkan lama waktu ekstraksi sebesar 10 menit, variabel kode 0 menunjukkan lama waktu ekstraksi sebesar 15 menit dan variabel kode +1 menunjukkan lama waktu ekstraksi sebesar 20 menit. Untuk variabel suhu ekstraksi variabel kode -1 menunjukkan suhu ekstraksi sebesar 50°C, variabel kode 0 menunjukkan suhu ekstraksi sebesar 55°C dan variabel kode +1 menunjukkan suhu ekstraksi sebesar 60°C. Kombinasi dari perlakuan X_1 , X_2 , dan X_3 dapat dilihat pada **Tabel 3.1**. Analisa data dilakukan dengan program *Design Expert 7.0.0 (Trial Version)*.

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Dengan Rancangan Desain Tiga Variabel *Box Behnken*

No.	Variabel			Variabel Kode		
	Rasio Bahan Terhadap Pelarut	Lama Waktu Ekstraksi (menit)	Suhu Ekstraksi (°C)	X ₁	X ₂	X ₃
1	0,04	20	50	0	1	-1
2	0,06	10	55	+1	-1	0
3	0,04	20	60	0	+1	+1
4	0,02	15	60	-1	0	+1
5	0,06	20	55	+1	+1	0
6	0,02	20	55	-1	+1	0
7	0,04	15	55	0	0	0
8	0,06	15	50	+1	0	-1
9	0,04	15	55	0	0	0
10	0,04	10	60	0	-1	1
11	0,04	10	50	0	-1	-1
12	0,06	15	60	+1	0	+1
13	0,02	10	55	-1	-1	0
14	0,02	15	50	-1	0	-1
15	0,04	15	55	0	0	0

3.3.1 Alur Penelitian

Alur penelitian meliputi rumusan masalah hingga kesimpulan. Diagram alir kerja penelitian dapat dilihat pada **Gambar 3.1**.



Gambar 3.1. Diagram Alir Kerja Penelitian

3.3.2 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini antara lain :

1. Bahan baku yang digunakan adalah seluruh bagian daun alpukat tua (warna hijau tua) yang berasal dari satu pohon.
2. Penelitian dilakukan pada skala Laboratorium.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian terdiri dari ekstraksi pewarna alami dari daun alpukat dan pengujian analisis perlakuan ekstraksi pewarna alami sesuai dengan rancangan percobaan yang ditetapkan yaitu rasio bahan terhadap pelarut, lama ekstraksi, dan suhu ekstraksi. Sedangkan analisis perlakuan dilakukan untuk mengetahui kualitas hasil ekstraksi pewarna alami dari daun alpukat meliputi rendemen dan total tanin serta pengujian pembacaan warna pada perlakuan paling optimum.

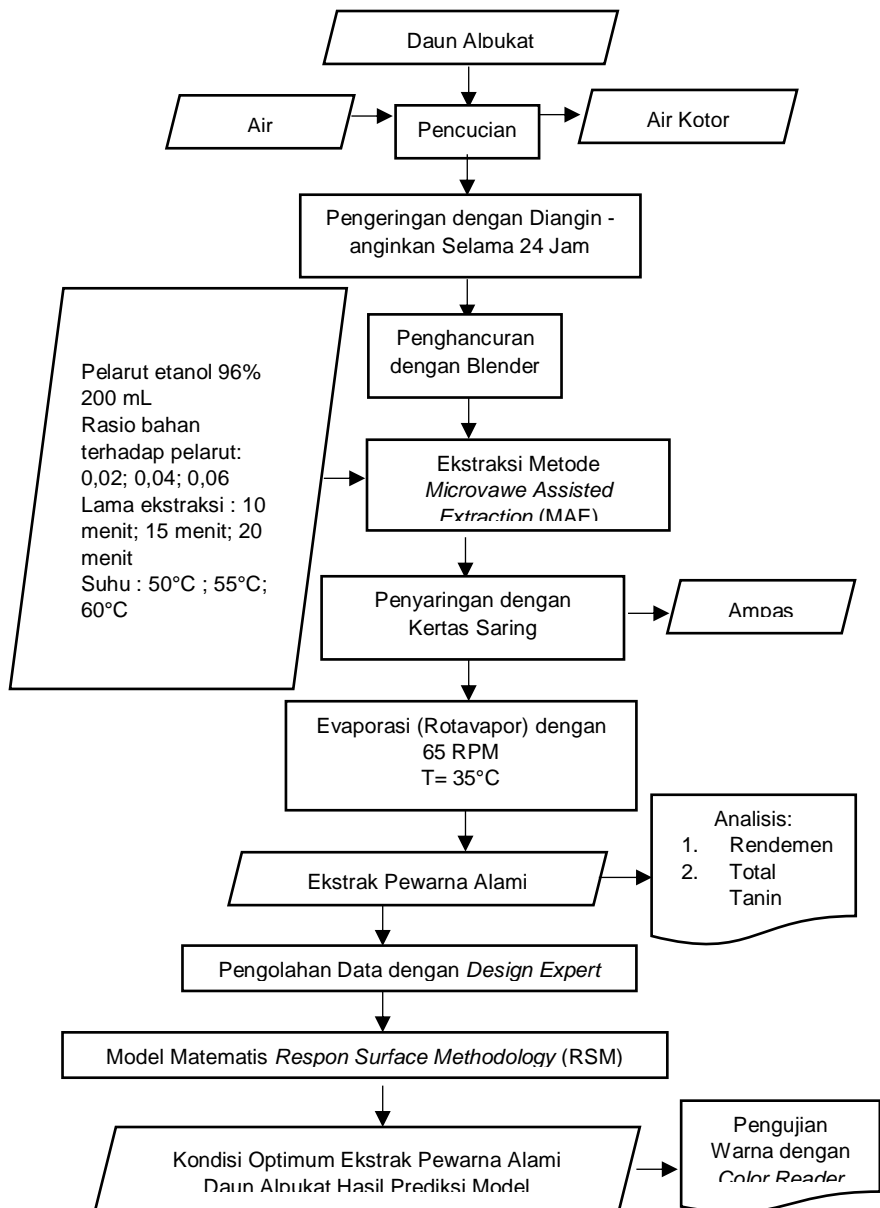
3.4.1 Ekstraksi Daun Alpukat

Ekstraksi pewarna alami dari daun alpukat memiliki beberapa tahapan sebagai berikut:

1. Daun alpukat dicuci sampai bersih
2. Setelah pencucian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan kurang lebih 1 hari. Pengeringan ini bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam daun alpukat sehingga diharapkan hasil ekstraksi lebih akurat. Setelah dikeringkan daun alpukat dihaluskan menjadi serbuk dengan blender. Hal tersebut bertujuan untuk memperluas permukaan sampel sehingga kontak antara sampel dan pelarut semakin mudah.
3. Dilakukan ekstraksi dengan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 200 mL dan perlakuan sesuai rancangan percobaan yaitu rasio bahan terhadap pelarut 0,02; 0,04; 0,06, lama ekstraksi 10 menit; 15 menit; 20 menit, suhu ekstraksi 50 °C ; 55 °C ; 60 °C.
4. Hasil ekstraksi dengan MAE kemudian disaring dengan kertas saring dan dipisahkan dari endapannya.

5. Ekstrak pewarna alami daun alpukat kemudian dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak dengan suhu dibawah titik didih pelarut. Evaporasi dilakukan sesuai rancangan percobaan dengan suhu evaporasi 35°C. Evaporasi dilakukan sampai pelarut pada labu pemisah tidak menetes lagi, sehingga dihasilkan ekstrak kasar daun alpukat ang diharapkan sudah tidak mengandung pelarut.

Diagram alir pembuatan ekstrak pewarna alami dari daun alpukat dapat dilihat pada **Gambar 3.2** :



Gambar 3.2. Diagram Alir Pembuatan Ekstrak Pewarna Alami dari Daun Alpukat

3.5 Pengamatan dan Analisis Data

3.5.1 Pengamatan

Penelitian ekstraksi pewarna alami dari daun alpukat dilakukan untuk menganalisis atau mempelajari hasil ekstraksi yang telah dicapai setelah diperoleh titik optimum terhadap rendemen (Tensiska *et al.*, 2007), kadar tanin dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Khopkar, 2003). Hasil perlakuan optimum dilakukan uji warna dengan *color reader* (Saati, 2004).

3.5.2 Analisa Data

Analisa data dilakukan dengan *software Design Expert DX. 7.0.0* menggunakan *Box Behnken Design Response Surface Methodology*. Kemudian dilakukan verifikasi dimana hasil verifikasi hasil optimum perlu dilakukan sebagai pembuktian bahwa solusi titik optimum variabel bebas yang diberikan oleh *software Design Expert* benar-benar dapat memberikan hasil respon sesuai dengan respon optimum yang telah ditentukan oleh program dan benar-benar optimal. Verifikasi dilakukan dengan cara membandingkan nilai analisa respon pada penelitian dengan nilai respon hasil perhitungan *software Design Expert*.

3.6 Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian dilakukan proses penyusunan kesimpulan dan saran. Penyusunan kesimpulan dan saran dilakukan sesudah penelitian dan memberikan jawaban sesuai dengan perumusan masalah. Kesimpulan diambil dengan mempertimbangkan hasil-hasil yang diperoleh dari penelitian yang didukung dengan teori sebagai landasan berfikir. Saran berisi masukan yang dapat digunakan oleh peneliti lain untuk meneruskan dan atau mengembangkan penelitian ini.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Optimasi Rasio Bahan terhadap Pelarut, Lama Ekstraksi, dan Suhu Ekstraksi

Data hasil pengamatan rendemen dan total tanin disajikan pada **Tabel 4.1**. data tersebut menunjukkan bahwa perlakuan pada titik pusat pada rasio bahan terhadap pelarut 0,05, lama ekstraksi 20 menit dan suhu ekstraksi 57,15°C menghasilkan respon rendemen dan total tanin dengan nilai optimum jika dibandingkan dengan respon perlakuan lainnya.

Tabel 4.1 Data Respon Rendemen dan Total Tanin

No.	Variabel			Variabel Kode			Respon Rendemen (%)	Respon Total Tanin (mg GAE/g)
	Rasio Bahan Terhadap Pelarut	Lama Waktu Ekstraksi (menit)	Suhu Ekstraksi (°C)	X ₁	X ₂	X ₃		
1	0,04	20	50	0	+1	-1	9,071	814,57
2	0,06	10	55	+1	-1	0	12,08	523,14
3	0,04	20	60	0	+1	+1	11,89	783,14
4	0,02	15	60	-1	0	+1	7,432	363,14
5	0,06	20	55	+1	+1	0	11,99	564,57
6	0,02	20	55	-1	+1	0	7,356	573,14
7	0,04	15	55	0	0	0	9,816	958,86
8	0,06	15	50	+1	0	-1	11,337	513,14
9	0,04	15	55	0	0	0	9,852	1067,43
10	0,04	10	60	0	-1	1	9,46	516,00
11	0,04	10	50	0	-1	-1	11,289	526,00
12	0,06	15	60	+1	0	+1	11,179	564,57
13	0,02	10	55	-1	-1	0	8,047	267,43
14	0,02	15	50	-1	0	-1	6,285	447,43
15	0,04	15	55	0	0	0	8,812	1001,71

Hasil respon rendemen terendah yaitu pada perlakuan rasio bahan terhadap pelarut 0,02, lama ekstraksi 15 menit dan suhu ekstraksi 50°C dengan nilai 6,285%. Hasil respon rendemen tertinggi yaitu pada perlakuan perlakuan rasio bahan terhadap pelarut 0,06, lama ekstraksi 20 menit dan suhu ekstraksi 50°C dengan nilai 12,08%. Berdasar penelitian Widoretno *et al.* (2016), rendemen optimum ekstraksi tanin dari kayu nangka dengan metode MAE adalah 3,67%. Berdasar penelitian Sibuea (2015),

rendemen ekstraksi tanin dari kluwak dengan metode soxhletasi adalah 15,53%. Berdasar penelitian Lestari (2014), rendemen ekstraksi tanin dari daun alpukat dengan metode soxhletasi adalah 69,07%. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstraksi yang dilakukan oleh peneliti menghasilkan rendemen lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi kayu nangka dengan metode MAE, namun rendemen yang dihasilkan lebih sedikit jika dibandingkan dengan metode soxhletasi.

Sedangkan hasil respon total tanin terendah yaitu pada perlakuan rasio bahan terhadap pelarut 0,02, lama ekstraksi 10 menit dan suhu ekstraksi 55°C dengan nilai 267,43 mg GAE/g. Hasil repon total tanin tertinggi yaitu pada perlakuan rasio bahan terhadap pelarut 0,04, lama ekstraksi 15 menit dan suhu ekstraksi 55°C dengan nilai 1067,43 mg GAE/g. Berdasar penelitian Rhazi *et al.* (2015) bahwa total tanin optimum dari ekstraksi *Moroccan Acacia* dengan metode MAE adalah 481,4 mg GAE/g. Diperkuat dengan penelitian Prabhu dan Teli (2011) bahwa total tanin dari ekstraksi *Tamarindus indica* L. Adalah 365 mg GAE/g. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstraksi yang dilakukan oleh peneliti menghasilkan total tanin yang lebih tinggi yaitu 1067,43 mg GAE/g.

Data respon rendemen dan total tanin yang diperoleh digunakan dalam analisa statistika untuk mengoptimasi variabel lama ekstraksi, rasio bahan terhadap pelarut dan suhu ekstraksi. Prediksi model persamaan optimal yang sesuai diperoleh dengan bantuan program *Design Expert DX 7.0.0*.

4.2 Analisa Metodologi Permukaan Respon

4.2.1 Analisis Pemilihan Model

Pada analisa permukaan respon menggunakan rancangan desain *Box Behnken* terdapat beberapa model statistik yang digunakan untuk menganalisa data hasil penelitian yang telah ditetapkan. Beberapa model statistik yang ditawarkan dalam program *Design Expert DX 7.0.0* adalah model linear, linear dengan interaksi (2FI), kuadratik serta kubik. Pemilihan model yang paling sesuai untuk menentukan respon optimum berdasarkan evaluasi model dari sistem komputerisasi program

Design Expert yaitu jumlah kuadrat dari urutan model (*Sequential Model Sum of Squares*), pengujian ketidaktepatan model statistik (*Lack of Fit*) dan model statistik (*Model Summary Statistic*) dan ANOVA.

4.2.1.1 Pemilihan Model Respon Rendemen

4.2.1.1.1 Berdasarkan *Sequential Model Sum of Squares*

Model terpilih berdasarkan uraian jumlah kuadrat adalah urutan *polynomial* dengan nilai tertinggi dimana syarat model yang diterima bernilai nyata jika P bernilai kurang dari 5% (0,05) yang berarti bahwa model tersebut dapat menggambarkan pengaruh signifikan terhadap respon. Perhitungan pemilihan model berdasarkan "*Sequential Model Sum of Squares*" dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

Berdasar pemilihan model *Sequential Model Sum of Squares* pada **Lampiran 3**, didapatkan hasil bahwa model terpilih yaitu kuadratik karena memiliki nilai 0,0230 (<5%) yang menunjukkan bahwa peluang kesalahan model kurang dari 5% (nilai p pada program telah diatur <5%) sehingga berpengaruh nyata terhadap respon rendemen. Pada model linear (0,0006), 2FI vs linear (0,0798) memiliki nilai lebih dari 5% yang menandakan bahwa peluang kesalahan pada model lebih dari 5% yang berarti bahwa pengaruh model linear tidak nyata (signifikan) terhadap respon rendemen.

4.2.1.1.2 Berdasarkan *Lack of Fit*

Dari keempat model, yang terpilih sebagai model berstatus "*suggested*" yaitu kuadratik. Maka pemilihan model harus didasarkan pada hasil uji ketidaktepatan model (*Lack of Fit*) dengan model pemilihan berstatus "*suggested*". Hasil perhitungan ketidaktepatan model (*Lack of Fit*) disajikan pada **Lampiran 4**.

Berdasarkan perhitungan ketidaktepatan model (*Lack of Fit*), model kuadratik dinyatakan sebagai "*suggested*" yaitu model yang terpilih dan memiliki nilai sebesar 0,9404 yang menunjukkan model ini tidak berbeda nyata karena nilai $p > 5\%$ sehingga dapat diartikan model-model tersebut merupakan model yang tepat

untuk respon rendemen. Model ini dianggap tepat apabila simpangan dari model bersifat tidak beda nyata secara statistik pada taraf α tertentu, untuk kasus ini α yang digunakan adalah 0,05. Menurut Gasperz (1995), suatu model dianggap tepat untuk menjelaskan suatu permasalahan dari sistem yang dikaji adalah jika ketidaktepatan dari model bersifat tidak berbeda nyata secara statistik. Untuk model linear dan 2FI diperoleh nilai p berturut-turut sebesar 0,2607 dan 0,3742 yang menunjukkan bahwa model ini tidak berbeda nyata karena nilai $p > 5\%$, namun model yang disarankan untuk dipilih berdasarkan program *Design Expert* adalah model kuadratik karena memiliki nilai beda nyata lebih tinggi dibandingkan dengan model yang lain.

4.2.1.1.3 Berdasarkan *Model Summary Statistic*

Pemilihan model ketiga menggunakan program *Design Expert DX 7.0.0* adalah *Model Summary Statistic*. Menurut Montgomery (2001) bahwa desain terbaik difokuskan pada nilai *adjusted R²* dan *predicted R²* yang maksimal. Selain itu parameter yang digunakan untuk memilih model yang terbaik adalah model yang memiliki standar deviasi dan PRESS (*Prediction Error Sum of Squares*) (Drapper dan Smith, 1998). *Model Summary Statistic* disajikan dalam **Lampiran 5**.

Lampiran 5. menunjukkan bahwa desain model yang terpilih sebagai model yang tepat adalah kuadratik. Hal ini dikarenakan model kuadratik yang memiliki nilai PRESS (*Prediction Error Sum of Squares*) yang rendah dibandingkan dengan model linear dan 2FI. PRESS menunjukkan prediksi kesalahan jumlah kuadrat, apabila nilai PRESS rendah maka prediksi kesalahan semakin rendah. Nilai standar deviasi pada model kuadratik yaitu 0,41 lebih kecil dibanding model linear (0,99) dan 2FI (0,78). Standar deviasi menunjukkan tingkat keragaman data yang rendah. Seiring dengan nilai standar deviasi yang lebih kecil, model kuadratik memiliki nilai *adjusted R²* dan *predicted R²* yang paling maksimal yaitu sebesar 0,9534 dan 0,9276. Parameter "*adjusted R²*" digunakan untuk mendapatkan nilai signifikansi variabel yang lebih tepat. Hal ini berarti variabel lama ekstraksi, rasio bahan terhadap pelarut dan

suhu ekstraksi berpengaruh terhadap respon rendemen sebesar 95,34% pada model kuadrat.

Model terpilih didasarkan pada nilai standar deviasi dan PRESS (*Prediction Residuals Error Sum of Square*) terendah. Semakin besar nilai standar deviasi maka menunjukkan bahwa data semakin bervariasi, sehingga apabila nilai standar deviasi semakin kecil maka tingkat keseragaman data semakin besar (Santoso, 2009). Sedangkan nilai press yang semakin kecil menunjukkan kesalahan data semakin kecil pula. Myers dan Montgomery (2002), menyatakan bahwa penentuan model yang terbaik difokuskan pada nilai adjusted R^2 dan predicted R^2 yang maksimal. Hal ini dikarenakan semakin kecil nilai R^2 menunjukkan semakin lemahnya hubungan antara variabel *dependent* dan *independent* (Nisfiannoor, 2009). Menurut Nawari (2010), nilai R^2 berkisar pada angka 0 sampai 1. Semakin mendekati nilai 1 maka pengaruh variabel peduga (*Independent*) terhadap variabel tergantung (*dependent*) semakin kuat.

Berdasarkan tiga kriteria pemilihan model, maka model yang terpilih untuk menjelaskan hubungan antara variabel X_1 (rasio bahan terhadap pelarut), X_2 (lama ekstraksi) dan X_3 (suhu ekstraksi) terhadap respon Y_1 adalah model kuadrat.

4.2.1.2 Pemilihan Model Respon Total Tanin

4.2.1.2.1 Berdasarkan *Sequential Model Sum of Squares*

Model terpilih berdasarkan uraian jumlah kuadrat adalah urutan *polynomial* dengan nilai tertinggi dimana syarat model yang diterima bernilai nyata jika P bernilai kurang dari 5% (0,05) yang berarti bahwa model tersebut dapat menggambarkan pengaruh signifikan terhadap respon. Perhitungan pemilihan model berdasarkan "*Sequential Model Sum of Squares*" dapat dilihat pada **Lampiran 7**.

Berdasarkan pemilihan model *Sequential Model Sum of Squares* pada **Lampiran 7**, didapatkan hasil bahwa model terpilih yaitu kuadrat karena memiliki nilai $<0,0001$ ($<5\%$) yang menunjukkan bahwa peluang kesalahan model kurang dari 5% (nilai p pada program telah diatur $<5\%$) sehingga berpengaruh nyata terhadap respon total tanin. Pada model linear memiliki nilai

lebih dari 5% yang menandakan bahwa peluang kesalahan pada model lebih dari 5% yang berarti bahwa pengaruh model linear tidak nyata (signifikan) terhadap respon total tanin.

4.2.1.2.2 Berdasarkan *Lack of Fit*

Dari keempat model, yang terpilih sebagai model berstatus “*suggested*” yaitu kuadratik. Maka pemilihan model harus didasarkan pada hasil uji ketidaktepatan model (*Lack of Fit*) dengan model pemilihan berstatus “*suggested*”. Hasil perhitungan ketidaktepatan model (*Lack of Fit*) disajikan pada **Lampiran 8**.

Berdasarkan perhitungan ketidaktepatan model (*Lack of Fit*), model kuadratik dinyatakan sebagai “*suggested*” yaitu model yang terpilih dan memiliki nilai sebesar 0,6686 yang menunjukkan model ini tidak berbeda nyata karena nilai $p > 5\%$ sehingga dapat diartikan model-model tersebut merupakan model yang tepat untuk respon total tanin. Model ini dianggap tepat apabila simpangan dari model bersifat tidak beda nyata secara statistik pada taraf α tertentu, untuk kasus ini α yang digunakan adalah 0,05. Menurut Gasperz (1995), suatu model dianggap tepat untuk menjelaskan suatu permasalahan dari sistem yang dikaji adalah jika ketidaktepatan dari model bersifat tidak berbeda nyata secara statistik. Untuk model linear dan 2FI diperoleh nilai p berturut-turut sebesar 0,0404 dan 0,0280 yang menunjukkan bahwa model ini berbeda nyata karena nilai $p < 5\%$.

4.2.1.2.3 Berdasarkan *Model Summary Statistic*

Pemilihan model ketiga menggunakan program *Design Expert DX 7.0.0* adalah *Model Summary Statistic*. Menurut Montgomery (2001) bahwa desain terbaik difokuskan pada nilai *adjusted R²* dan *predicted R²* yang maksimal. Selain itu parameter yang digunakan untuk memilih model yang terbaik adalah model yang memiliki standar deviasi dan PRESS (*Prediction Error Sum of Squares*) (Drapper dan Smith, 1998). *Model Summary Statistic* disajikan dalam **Lampiran 9**.

Lampiran 9. menunjukkan bahwa desain model yang terpilih sebagai model yang tepat adalah kuadratik. Hal ini

dikarenakan model kuadratik yang memiliki nilai PRESS (*Prediction Error Sum of Squares*) yang rendah dibandingkan dengan model linear dan 2FI. PRESS menunjukkan prediksi kesalahan jumlah kuadrat, apabila nilai PRESS rendah maka prediksi kesalahan semakin rendah. Nilai standar deviasi pada model kuadratik yaitu 47,91 lebih kecil dibanding model linear (244,23) dan 2FI (281,51). Standar deviasi menunjukkan tingkat keragaman data yang rendah. Seiring dengan nilai standar deviasi yang lebih kecil, model kuadratik memiliki nilai *adjusted R²* dan *predicted R²* yang paling maksimal yaitu sebesar 0,9594 dan 0,8719. Parameter "*adjusted R²*" digunakan untuk mendapatkan nilai signifikansi variabel yang lebih tepat. Hal ini berarti variabel lama ekstraksi, rasio bahan terhadap pelarut dan suhu ekstraksi berpengaruh terhadap respon total tanin sebesar 95,94% pada model kuadratik.

Model terpilih didasarkan pada nilai standar deviasi dan PRESS (*Prediction Residuals Error Sum of Square*) terendah. Semakin besar nilai standar deviasi maka menunjukkan bahwa data semakin bervariasi, sehingga apabila nilai standar deviasi semakin kecil maka tingkat keseragaman data semakin besar (Santoso, 2009). Sedangkan nilai press yang semakin kecil menunjukkan kesalahan data semakin kecil pula. Myers dan Montgomery (2002), menyatakan bahwa penentuan model yang terbaik difokuskan pada nilai *adjusted R²* dan *predicted R²* yang maksimal. Hal ini dikarenakan semakin kecil nilai *R²* menunjukkan semakin lemahnya hubungan antara variabel *dependent* dan *independent* (Nisfiannoor, 2009). Menurut Nawari (2010), nilai *R²* berkisar pada angka 0 sampai 1. Semakin mendekati nilai 1 maka pengaruh variabel peduga (*Independent*) terhadap variabel tergantung (*dependent*) semakin kuat.

Berdasarkan tiga kriteria pemilihan model, maka model yang terpilih untuk menjelaskan hubungan antara variabel X_1 (rasio bahan terhadap pelarut), X_2 (lama ekstraksi) dan X_3 (suhu ekstraksi) terhadap respon Y_2 adalah model kuadratik.

4.2.2 Analisis Ragam (ANOVA)

4.2.2.1 Rendemen

Hasil dari tiga proses pemilihan model yang telah dilakukan, model terbaik untuk permukaan respon redemen adalah kuadratik dan selanjutnya dilakukan analisis ragam terhadap model kuadratik tersebut. Menurut Gasperz (1995), kriteria utama ketepatan model adalah berdasarkan pengujian *Lack of Fit* test. Hal ini karena suatu model dianggap tepat jika diuji ketidaktepatan model bersifat tidak nyata (*insignificant*) secara statistik dan dianggap tidak tepat untuk menjelaskan suatu permasalahan dari suatu analisis yang dikaji jika ketidaktepatan dari model bersifat nyata (*significant*). Hasil ragam (ANOVA) dapat dilihat pada **Lampiran 6**.

Model variabel rasio bahan terhadap pelarut (A), interaksi antar variabel lama ekstraksi dan suhu ekstraksi (BC), dan variabel lama ekstraksi (B^2) pada grafik kuadratik memberikan pengaruh yang signifikan terhadap respon rendemen ditunjukkan dari nilai $p < 5\%$. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga variabel tersebut berpengaruh terhadap respon rendemen. Menurut Suhimi (2012), apabila nilai p kurang dari 0,05 hal tersebut menunjukkan bahwa model bersifat signifikan dan *Lack of Fit* tidak signifikan ($P > 0,05$) yaitu 0,9404. Persamaan regresi model kuadratik dari respon Y_1 (rendemen) yang dipengaruhi rasio bahan terhadap pelarut (X_1), lama ekstraksi (X_2), suhu ekstraksi (X_3) adalah sebagai berikut:

$$Y_1 = 48,06125 + 365,49583 X_1 - 3,67723 X_2 - 0,79039 X_3 + 0,04648 X_2 X_3 + 0,034883 X_2^2$$

Persamaan tersebut merupakan persamaan aktual yang diperlukan untuk mengetahui respon rendemen yang akan didapatkan jika nilai variabel yang diperlakukan berbeda. Pada persamaan tersebut koefisien X_2 dan X_3 bertanda negatif yang mengindikasikan adanya titik stasioner maksimum dari permukaan respon yang didapatkan. Persamaan tersebut juga dapat digunakan untuk memprediksi respon yang mungkin diperoleh dengan berbagai taraf proporsi. Persamaan tersebut menunjukkan variabel yang paling berpengaruh untuk respon rendemen yaitu variabel rasio bahan terhadap pelarut ditunjukkan

dengan koefisien tertinggi yaitu pada koefisien X_1 sebesar 365,49583.

4.2.2.2 Total Tanin

Hasil dari tiga proses pemilihan model yang telah dilakukan, model terbaik untuk permukaan respon total tanin adalah kuadratik dan selanjutnya dilakukan analisis ragam terhadap model kuadratik tersebut. Menurut Gasperz (1995), kriteria utama ketepatan model adalah berdasarkan pengujian *Lack of Fit* test. Hal ini karena suatu model dianggap tepat jika diuji ketidaktepatan model bersifat tidak nyata (*insignificant*) secara statistik dan dianggap tidak tepat untuk menjelaskan suatu permasalahan dari suatu analisis yang dikaji jika ketidaktepatan dari model bersifat nyata (*significant*). Hasil ragam (ANOVA) dapat dilihat pada **Lampiran 10**.

Model variabel rasio bahan terhadap pelarut (A), lama ekstraksi (B), interaksi antar variabel rasio bahan terhadap pelarut dengan lama ekstraksi (AB), variabel rasio bahan terhadap pelarut (A^2), variabel lama ekstraksi (B^2) dan variabel suhu ekstraksi (C^2) pada grafik kuadratik memberikan pengaruh yang signifikan terhadap respon total tanin ditunjukkan dari nilai $p < 5\%$. Hal ini menunjukkan bahwa keenam variabel tersebut berpengaruh terhadap respon total tanin. Menurut Suhimi (2012), apabila nilai p kurang dari 0,05 hal tersebut menunjukkan bahwa model bersifat signifikan dan *Lack of Fit* tidak signifikan ($P > 0,05$) yaitu 0,6686. Persamaan regresi model kuadratik dari respon Y_2 (total tanin) yang dipengaruhi rasio bahan terhadap pelarut (X_1), lama ekstraksi (X_2), suhu ekstraksi (X_3) adalah sebagai berikut:

$$Y_2 = -23884,035 + 65975,333 X_1 + 264,42925 X_2 + 778,47808 X_3 - 660,7 X_1 X_2 - 8,93901E+005 X_1^2 - 6,78812 X_2^2 - 7,18812 X_3^2$$

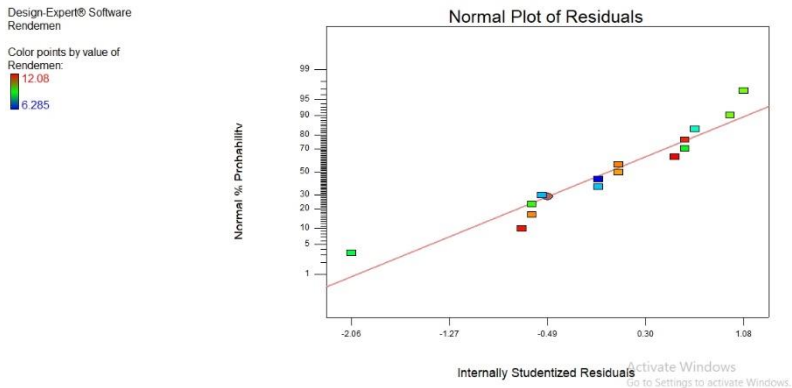
Persamaan tersebut merupakan persamaan aktual yang diperlukan untuk mengetahui respon rendemen yang akan didapatkan jika nilai variabel yang diperlakukan berbeda. Pada persamaan tersebut koefisien variabel yang bertanda negatif yang mengindikasikan adanya titik stasioner maksimum dari permukaan respon yang didapatkan. Persamaan tersebut juga dapat digunakan untuk memprediksi respon yang mungkin diperoleh dengan berbagai taraf proporsi. Persamaan tersebut

menunjukkan variabel yang paling berpengaruh untuk respon total tanin yaitu variabel rasio bahan terhadap pelarut ditunjukkan dengan koefisien tertinggi yaitu pada koefisien X_1 sebesar 65975,333

4.2.3 Respon Rendemen dan Total Tanin

4.2.3.1 Pengaruh Rasio Bahan terhadap Pelarut, Lama Ekstraksi, dan Suhu Ekstraksi Terhadap Rendemen

Hubungan antara variabel rasio bahan terhadap pelarut (X_1), lama ekstraksi (X_2), suhu ekstraksi (X_3) terhadap rendemen dapat digambarkan melalui kontur plot dan grafik permukaan respon. Respon rendemen digambarkan dalam kontur-kontur plot yang masing-masing koordinatnya menunjukkan taraf setiap variabel. Suatu kontur yang muncul merupakan perwakilan dari nilai spesifik tinggi permukaan respon. Berikut ini merupakan **Gambar 4.1** mengenai kurva *Normal Plot of Residual* dari model yang telah disarankan terhadap respon rendemen.

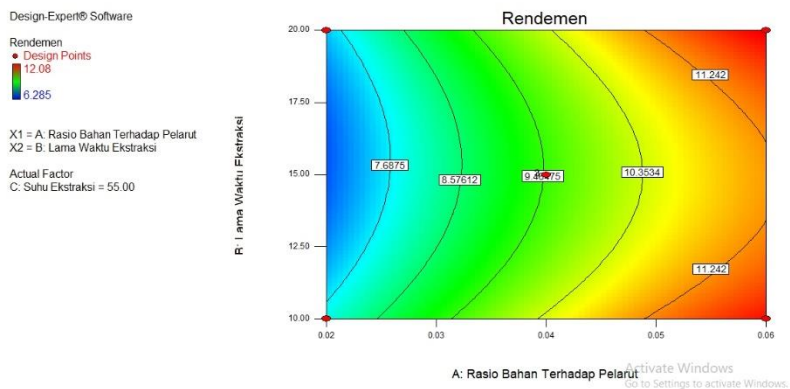


Gambar 4.1 Kurva *Normal Plot of Residuals* terhadap Respon Rendemen

Berdasarkan **Gambar 4.1** diatas menunjukkan bahwa tidak semua titik residual berada tepat disepanjang garis tengah antar persentase peluang kenormalan dengan residual. Titik-titik data semakin mendekati garis kenormalan menunjukkan data menyebar normal yang berarti hasil aktual akan mendekati hasil

yang diprediksi oleh program (Kumari *et al.*, 2008). Oleh karena itu, model tersebut dianggap telah terdistribusi secara normal.

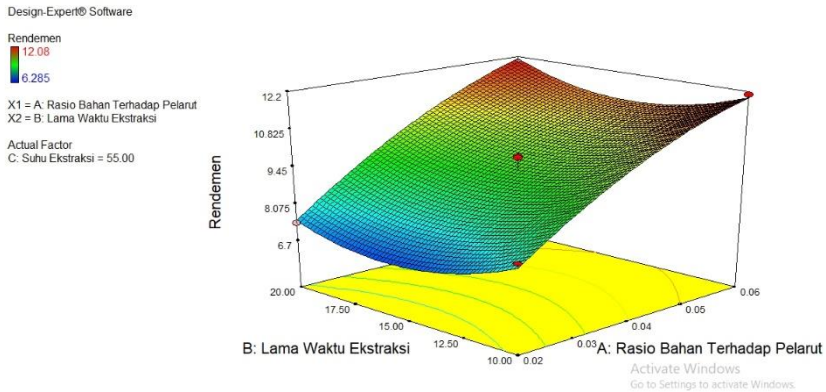
Grafik pengaruh interaksi rasio bahan terhadap pelarut dan lama waktu ekstraksi terhadap rendemen ditunjukkan pada **Gambar 4.2**. Pada gambar dapat dilihat bahwa pengaruh interaksi rasio bahan terhadap pelarut dan lama waktu ekstraksi bersifat kuadratik terhadap respon rendemen. Grafik respon pada **Gambar 4.2** menunjukkan bahwa sumbu (X) adalah rasio bahan terhadap pelarut dan sumbu (Y) adalah lama waktu ekstraksi terhadap respon rendemen. Garis yang melingkar pada gambar menunjukkan respon tersebut. Pada *countur plot* menunjukkan nilai respon semakin dekat dengan daerah yang berwarna merah maka titik tersebut memiliki nilai respon yang semakin tinggi. Sehingga dapat diketahui respon optimum berdasarkan plot kontur yang ditandai oleh lingkaran warna merah.



Gambar 4.2 *Countur Plot* Variabel Rasio Bahan terhadap Pelarut dan Lama Waktu Ekstraksi pada Respon Rendemen

Pada **Gambar 4.3** dapat dilihat bahwa grafik respon rendemen meningkat seiring dengan meningkatnya rasio bahan terhadap pelarut dan lama waktu ekstraksi. Hal ini disebabkan karena semakin banyak bahan yang akan diekstrak semakin banyak juga rendemen yang akan dihasilkan, selain itu juga lama waktu ekstraksi juga salah satu faktor penting yang

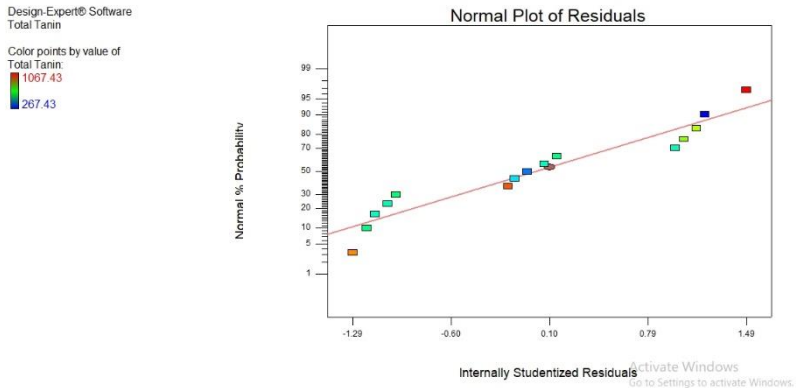
mempengaruhi laju ekstraksi, sehingga berpengaruh juga terhadap rendemen yang didapat.



Gambar 4.3 Grafik interaksi Variabel Rasio Bahan terhadap Pelarut dan Lama Waktu Ekstraksi pada Respon Rendemen

4.2.3.2 Pengaruh Rasio Bahan terhadap Pelarut , Lama Ekstraksi, dan Suhu Ekstraksi Terhadap Total Tanin

Hubungan antara variabel rasio bahan terhadap pelarut (X_1), lama ekstraksi (X_2), suhu ekstraksi (X_3) terhadap total tanin dapat digambarkan melalui kontur plot dan grafik permukaan respon. Respon total tanin digambarkan dalam kontur-kontur plot yang masing-masing koordinatnya menunjukkan taraf setiap variabel. Suatu kontur yang muncul merupakan perwakilan dari nilai spesifik tinggi permukaan respon. Berikut ini merupakan **Gambar 4.4** mengenai kurva *Normal Plot of Residual* dari model yang telah disarankan terhadap respon rendemen.

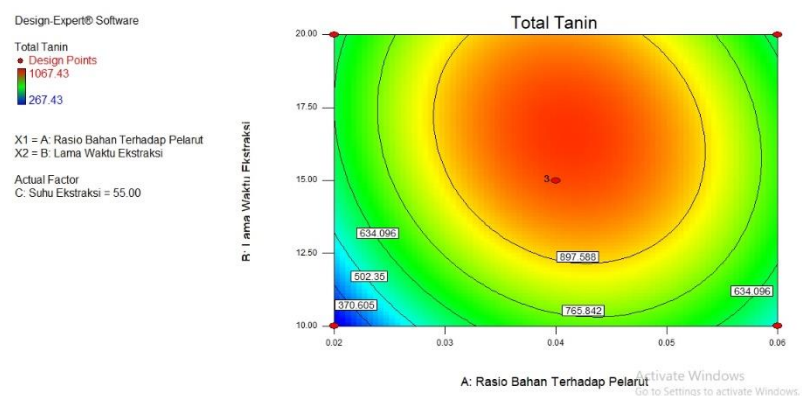


Gambar 4.4 Kurva *Normal Plot of Residuals* terhadap Respon Total Tanin

Berdasarkan **Gambar 4.4** diatas menunjukkan bahwa tidak semua titik residual berada tepat disepanjang garis tengah antar presentase peluang kenormalan dengan residual. Titik-titik data semakin mendekati garis kenormalan menunjukkan data menyebar normal yang berarti hasil aktual akan mendekati hasil yang diprediksi oleh program (Kumari *et al.*, 2008). Oleh karena itu, model tersebut dianggap telah terdistribusi secara normal.

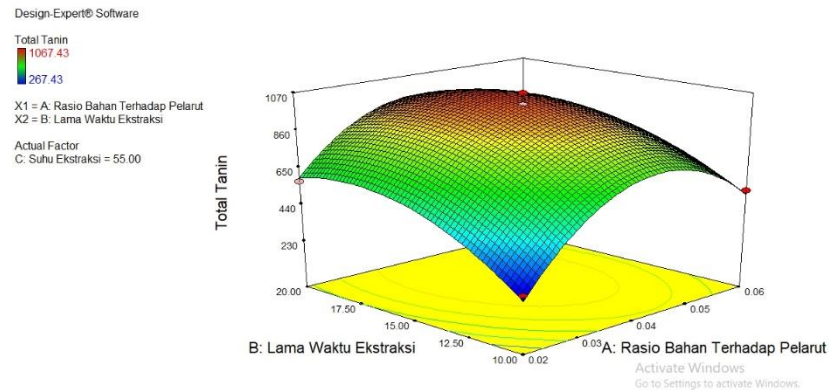
Grafik pengaruh interaksi rasio bahan terhadap pelarut dan lama waktu ekstraksi terhadap total tanin ditunjukkan pada **Gambar 4.5** pada gambar dapat dilihat bahwa pengaruh interaksi rasio bahan terhadap pelarut dan lama waktu ekstraksi bersifat kuadratik terhadap respon total tanin. Grafik respon pada **Gambar 4.5** menunjukkan bahwa sumbu (X) adalah rasio bahan terhadap pelarut dan sumbu (Y) adalah lama waktu ekstraksi terhadap respon total tanin. Garis yang melingkar pada gambar menunjukkan respon tersebut. Garis yang paling luar pada gambar menunjukkan respon total tanin terkecil. Sedangkan semakin kedalam menunjukkan respon total tanin terbesar. Pada *countur plot* menunjukkan nilai respon semakin dekat dengan daerah yang berwarna merah maka titik tersebut memiliki nilai respon yang semakin tinggi. Sehingga dapat diketahui respon

optimum berdasarkan plot kontur yang ditandai oleh lingkaran warna merah.



Gambar 4.5 Countur Plot Variabel Rasio Bahan terhadap Pelarut dan Lama Waktu Ekstraksi pada Respon Total Tanin

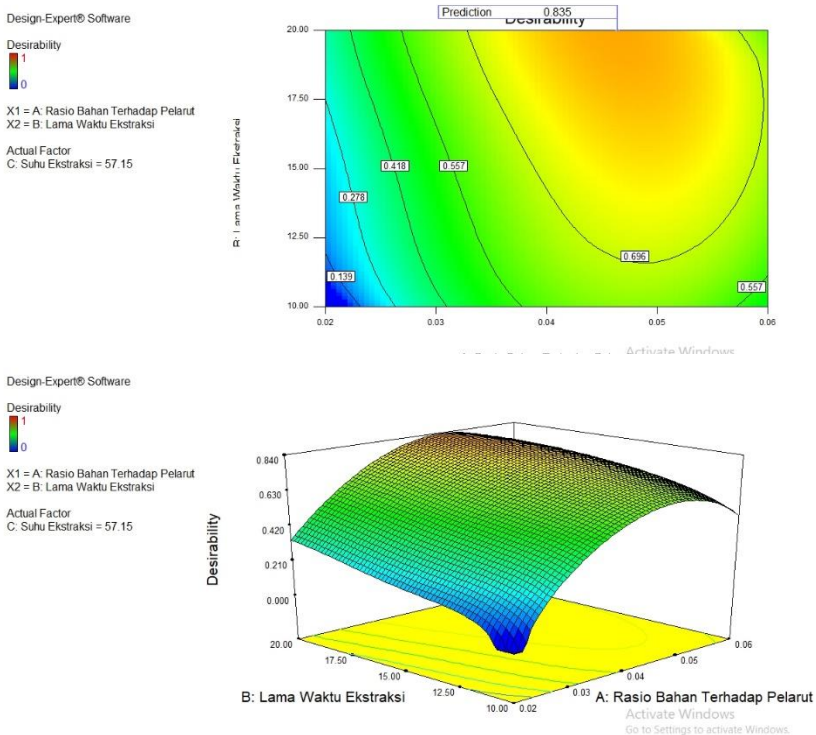
Pada **Gambar 4.6** dapat dilihat bahwa grafik respon total tanin meningkat seiring dengan meningkatnya rasio bahan terhadap pelarut dan lama waktu ekstraksi. Semakin banyak jumlah bahan yang akan diekstrak dan semakin lama waktu ekstraksi maka semakin tinggi pula kadar tanin yang didapat.



Gambar 4.6 Grafik interaksi Variabel Rasio Bahan terhadap Pelarut dan Lama Waktu Ekstraksi pada Respon Total Tanin

4.2.4 Titik Optimum Respon Rendemen dan Total Tanin

Pada penelitian ini, hasil yang diinginkan adalah rendemen dan total tanin yang tinggi pada produk pewarna alami kain dari daun alpukat. **Gambar 4.7** menunjukkan kurva permukaan respon titik optimum variabel rasio bahan terhadap pelarut, lama ekstraksi dan suhu ekstraksi terhadap respon rendemen dan total tanin.



Gambar 4.7 Kurva Permukaan Respon Titik Optimum dalam 2 Dimensi (a) dan dalam 3 Dimensi (b)

Kontur *desirability* pada **Gambar 4.7** merupakan kontur yang menunjukkan ketepatan hasil optimasi. Kontur ini ditandai dengan adanya bendera (*flag*) yang berada di tengah kontur yang menunjukkan keterangan titik optimal yang terletak pada titik (*node*) yang ditunjukkan pada bendera tersebut. Optimasi pada

program akan dilakukan berdasarkan input data variabel data dan data pengukuran respon. Output dari tahap optimasi berupa rekomendasi formula baru yang optimal menurut program. Formula dengan nilai *desirability* maksimum adalah formula yang paling optimal. Menurut Raissi dan Farzani (2009) nilai *desirability* berkisar dari 0-1, dimana semakin mendekati angka 1 menunjukkan kemampuan program untuk menghasilkan produk yang dikehendaki semakin sempurna. Tahapan optimasi tidak bertujuan untuk mencari nilai *desirability* 1 tetapi mencari kondisi terbaik yang mempertemukan semua fungsi tujuan. Pada **Gambar 4.7** diketahui bahwa nilai *desirability* sebesar 0,835, menunjukkan kemampuan program untuk memenuhi keinginan berdasarkan kriteria yang ditetapkan pada produk akhir semakin sempurna.

Berdasarkan solusi yang diperoleh dari sistem perhitungan program *Design Expert*, titik optimum variabel rasio bahan terhadap pelarut, lama ekstraksi, dan suhu ekstraksi berturut-turut adalah 0,05; 20 menit; 57,15°C. Dari titik optimum variabel bebas, didapatkan nilai respon optimum rendemen dan total tanin sebesar 11,5658% dan 880,094 mg GAE/g. Solusi titik optimum yang diperoleh dari hasil komputasi *Design Expert* ditunjukkan pada **Tabel 4.2**

Tabel 4.2 Solusi Titik Optimum Terpilih Hasil Perhitungan *Design Expert*

Number	Variabel			Respon		
	Rasio bahan terhadap pelarut	Lama ekstraksi	Suhu ekstraksi	Rendemen	Total tanin	Desirability
1	0.05	20	57,15	11,5658	880,094	0,835

4.3 Verifikasi Hasil Optimum

Tahapan selanjutnya adalah tahapan verifikasi dilakukan dengan dua kali ulangan. Hasil yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan nilai variabel respon yang diprediksi oleh RSM yang telah dilengkapi dengan prediksi nilai setiap respon sehingga dapat dilihat kesesuaiannya pada tahapan verifikasi (Anihouvi *et al.*, 2011). Verifikasi hasil optimum dilakukan sebagai pembuktian bahwa solusi titik optimum variabel bebas yang diberikan oleh program *Design Expert* benar-benar dapat memberikan hasil respon sesuai dengan respon optimum yang telah ditentukan oleh program dan benar-benar optimal. Verifikasi dilakukan dengan cara membandingkan nilai analisa respon pada penelitian dengan nilai respon hasil perhitungan program *Design Expert*. Verifikasi hasil optimum dapat dilihat pada **Tabel 4.3**.

Tabel 4.3 Perbandingan Antara Hasil Optimasi dengan Hasil Verifikasi

	Variabel			Respon	
	Rasio bahan terhadap pelarut	Lama ekstraksi (menit)	Suhu ekstraksi (°C)	Rendemen (%)	Total Tanin (mg GAE/g)
Prediksi*	0,05	20	57,15°C	11,5658	880,094
Verifikasi**	0,05	20	57,15°C	11,0308	881,714
Perbedaan				4,6257%	0,184%

Keterangan : * hasil perhitungan program *Design Expert*

** data hasil perhitungan aktual

Berdasarkan **Tabel 4.3**, perhitungan analisa penelitian didapatkan nilai respon rendemen dan total tanin berturut-turut sebesar 11,0308% dan 881,714 mg GAE/g. Sedangkan dari perhitungan program *Design Expert* respon rendemen dan total tanin berturut-turut sebesar 11,5658% dan 880,094 mg GAE/g. Perbedaan nilai respon rendemen yaitu 4,6257% dan total tanin yaitu 0,184%. Hasil perbandingan tersebut menunjukkan bahwa selisih prediksi dengan verifikasi lebih kecil dari 5% yang berarti nilai verifikasi sudah sesuai dengan nilai prediksi program. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Wu *et al.*, (2006) bahwa perbedaan nilai prediksi dan nilai penelitian tidak lebih dari 5% mengindikasikan bahwa model tersebut cukup tepat untuk proses

dengan demikian selisih nilai tidak terlalu signifikan dan solusi variabel bebas yang diberikan program *Design Expert* dapat diterima. Hasil nilai aktual dengan nilai PI (*Prediction Interval*) yang menunjukkan bahwa nilai aktual masih masuk dalam rentang 95% PI Low dan 95% PI High membuktikan bahwa formula optimum dengan nilai *desirability* tertinggi memiliki hasil pengujian yang sesuai dengan prediksi yang direkomendasikan oleh program.

4.4 Warna Ekstrak Daun Alpukat Perlakuan Terbaik

Perlakuan terbaik yang disarankan oleh program *Design Expert* kembali diuji warna dengan *color reader* untuk mengetahui sumbangan keberadaan komponen pigmen yang dikandung pada ekstrak daun alpukat. Pengujian arah dan beda warna berdasarkan kecerahan (*lightness*) terhadap kejenuhan (*chroma*) dan corak warna (*hue*). Metode yang digunakan adalah CIELAB yang merupakan ruang warna yang dapat mencakup semua warna yang dapat dilihat mata. Hasil pengukuran warna dengan *color reader* didapatkan nilai yang menunjukkan tingkat kecerahan ekstrak (L^*), nilai (a^*) menunjukkan warna merah (a^+) dan warna hijau (a^-), serta (b^*) menunjukkan warna kuning (b^+) dan warna biru (b^-). Hasil pengukuran intensitas warna dengan *color reader* dapat dilihat pada **Tabel 4.4**.

Tabel 4.4 Hasil Pengukuran Intensitas Warna Ekstrak Daun Alpukat dengan *Color Reader* dibanding Pigmen Bahan Baku Lain

Pengukuran	Perlakuan Terbaik	Ekstrak Daun Alpukat menggunakan Soxhletasi	Ekstrak Biji Sorghum
L^*	22,2	25,33	22,3
a^*	+6,5	11	10,1
b^*	+7,9	11,7	6,2

Dari hasil pengukuran nilai L^* (tingkat kecerahan) ekstrak sebesar 22,2. Nilai L^* menyatakan tingkat gelap terang dengan kisaran 0-100 dimana nilai 0 menyatakan kecenderungan warna hitam atau sangat gelap, sedangkan nilai 100 menyatakan kecenderungan warna terang/putih. Tingkat kecerahan yang tinggi menunjukkan semakin pudarnya warna pada ekstrak, begitu juga sebaliknya tingkat kecerahan yang rendah menunjukkan sumbangan warna yang tinggi (Saati, 2004). Nilai kecerahan ekstrak daun alpukat memiliki nilai kecerahan yang cukup rendah, yang menunjukkan sumbangan zat warna yang cukup tinggi, yang dapat dilihat dari hasil ekstrak yang berwarna coklat tua. Hal ini dikarenakan konsentrasi tanin pada ekstrak dengan perlakuan terbaik mempunyai kandungan tanin yang cukup tinggi sehingga warna yang dihasilkan semakin gelap. Menurut Marnoto (2012), dalam penelitiannya disebutkan bahwa konsentrasi pelarut yang berbeda digunakan untuk mengekstrak zat warna berpengaruh terhadap kadar tanin dimana kadar tanin yang tinggi menghasilkan warna yang lebih pekat.

Suatu warna ekstrak pada umumnya tidak hanya diperoleh dari satu warna saja, melainkan gabungan dari beberapa warna. Suatu benda akan menyerap sinar dan akan memantulkan ke mata manusia, sehingga dihasilkan warna. Dengan kata lain warna adalah persepsi terhadap pantulan sinar dari benda yang kita lihat. Pada pengukuran *color reader*, diperoleh nilai a^* dan b^* yang menunjukkan sumbangan komponen warna dari ekstrak daun alpukat. Secara tampak mata, warna yang dihasilkan ekstrak daun alpukat adalah warna coklat tua. Berdasarkan nilai a^* dan b^* yang didapat diketahui kombinasi warna yang membentuk warna coklat pada ekstrak daun alpukat. Tingkat kemerahan (a^*) ekstrak yang bernilai positif menunjukkan bahwa warna coklat pada ekstrak daun alpukat mengandung warna merah. Semakin tinggi nilai a^* arah warna semakin ke arah kemerahan. Tingkat kekuningan (b^*) yang juga bernilai positif menunjukkan warna coklat pada ekstrak daun alpukat mengandung warna kuning. Semakin tinggi nilai b^* arah warna semakin ke arah kekuningan. Pada pengukuran warna ini diketahui berdasarkan nilai a^* dan b^* yang didapat bahwa warna

coklat pada ekstrak daun alpukat merupakan gabungan warna merah dan kuning.

Tingkat kemerahan (a^*) dan tingkat kekuningan (b^*) ekstrak daun alpukat yang dihasilkan dipengaruhi jenis pigmen yang terkandung. Pigmen hasil ekstraksi mempunyai nilai a^+ dan b^+ berarti ekstrak mengandung warna merah oranye. Menurut Fennema *et al.* (2008), peningkatan nilai a^* (tingkat kemerahan) dan b^* (tingkat kekuningan) yang cukup tinggi menunjukkan adanya sumbangan warna pigmen dominan merah dan sebagian cenderung ke arah merah oranye. Dari hasil pengukuran yang didapat diketahui nilai a^* (+6,5) dan b^* (+7,9) menunjukkan sumbangan warna merah dan kuning memiliki komposisi sumbangan warna yang hampir sama.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan analisis ragam (ANOVA) respon rendemen dan total tanin diperoleh model yang signifikan yaitu kuadratik dengan persamaan $Y_1 = 48,06125 + 365,49583 X_1 - 3,67723 X_2 - 0,79039 X_3 + 0,04648 X_2 X_3 + 0,034883 X_2^2$ dan $Y_2 = -23884,035 + 65975,333 X_1 + 264,42925 X_2 + 778,47808 X_3 - 660,7 X_1 X_2 - 8,93901E+005 X_1^2 - 6,78812 X_2^2 - 7,18812 X_3^2$ dan diketahui variabel rasio bahan terhadap pelarut menjadi variabel yang paling berpengaruh terhadap respon rendemen dan total tanin. Perlakuan terbaik pada rasio bahan terhadap pelarut 0,05, lama ekstraksi 20 menit dan suhu ekstraksi 57,15°C. Hasil verifikasi nilai respon rendemen 11,0308% dibandingkan dengan prediksi program 11,5658% dengan perbedaan 4,6257%. Hasil verifikasi nilai respon total tanin 881,174 mg GAE/g dibandingkan dengan prediksi program 880,094 mg GAE/g dengan perbedaan 0,184%. Ekstrak perlakuan terbaik juga dilakukan pengukuran warna dengan color reader yang menunjukkan ekstrak mempunyai tingkat kecerahan ($L^* = 22,2$) dan mengandung warna merah ($a^* = +6,5$) dan warna kuning ($b^* = +7,9$), sehingga gabungan warna ini menghasilkan warna yang terlihat oleh mata adalah warna coklat.

5.2 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai stabilitas warna yang dihasilkan dari ekstrak daun alpukat, karena umumnya pewarna alami bersifat sensitif terhadap beberapa faktor seperti lama penyimpanan, suhu, pH, cahaya, udara dan kelembapan. Diperlukan juga adanya penelitian tentang aplikasi pewarna alami dari ekstrak daun alpukat pada pewarnaan tekstil, kosmetik dan makanan dalam skala lebih besar.

DAFTAR PUSTAKA

- Agriawati, D. P. 2003. **Kandungan Tanin Terkondensasi dan Laju Dekomposisi pada Serasah Daun *Rhizospora mucronata* Lamk pada Ekosistem Tambak Tumpangsari, Purwakarta, Jawa Barat**. Skripsi Fakultas Kehutanan. Jurusan Manajemen Kehutanan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Anihouvi, V.B., Saalia, F., Dawson, S. E., Ayernor, G. S., Hounhoigan, J. D. 2011. ***Response Surface Methodology for Optimizing the Fermentation Conditions During the Processing of Cassava Fish (Pseudotolithus sp) into Lanhoun***. *International Journal of Engineering Science and Tchenology* 3(9) : 7085-7095.
- Antia, B.S. Je Okokon. dan PA Okon. 2005. ***Hypoglycemic Activity of Aqueous Leaf Extract of Persea americana Mill***. *Research Letter* 37(5): 325-326.
- Artati, E. K. dan Fadilah. 2007. **Pengaruh Kecepatan Putar Pengadukan dan Suhu Operasi pada Ekstraksi Tanin dari Jambu Mete dengan Pelarut Aseton**. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Arukwe U, Amadi BA, Duru MK. 2009. ***Chemical Composition of Persea americana Leaf, Fruit and Seed***. *IJRRAS* 11(2) : 346-349.
- Cahyadi, W. 2008. **Analisis dan Aspek Kesehatan : Bahan Tambahan Pangan**. Bumi Aksara. Jakarta.
- . 2009. **Analisis dan Aspek Kesehatan : Bahan Tambahan Pangan**. Bumi Aksara. Jakarta.
- Calinescu, I., C. Ciuculescu, M. Popescu, S. Bajenaru, G. Epure. 2001. ***Microwaves Assisted Extraction of Active Principles from Vegetal Material***. *Romanian International*

Conference on Chemistry and Chemical Engineering 12 : 1-6.

- Danarto, Y. C., Muljadi, Kartikaningsih, D., dan Arwan, M. 2011. **Pengambilan Tanin dari Kulit Kayu Bakau dan Pemanfaatan sebagai Adsorben Logam Berat Timbal (Pb) dan Tembaga (Cu).** Prosiding RAPI IX. Surakarta. UMS
- Desmiaty, Y., Ratih H., Dewi M. A. dan Agustin R. 2008. **Penentuan Jumlah Tanin Total pada Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia Lamk*) dan Daun Sambang Darah (*Excoceria bicolor Hassk.*) Secara Kolotimetri dengan Pereaksi Biru Prusia.** Jurnal Octocarpus 8 : 106-109.
- Direktorat Jendral Hortikultura. 2015. **Statistik Produksi Hortikultura Tahun 2014.** Dilihat 5 Maret 2017. <<http://hortikultura.pertanian.go.id>>.
- Drapper, N. R dan H. Smith. 1998. ***Applied Regresion Analysis Third Edition.*** John Wiley&Sons Inc. New York.
- Fathinatullabibah, Kawiji dan Lia U. K. 2014. **Stabilitas Antosianin Ekstrak Daun Jati (*Tectona grandis*) terhadap Perlakuan pH dan Suhu.** Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan 3(2):60-63.
- Fennema, O. R. 2008. ***Food Chemistry Third Edition.*** Marcel Dekker Inc. New York.
- Firdaus, A. dan Winarti Sri. 2010. **Stabilitas Warna Merah Ekstraksi Bunga Rosela untuk Pewarna Makanan dan Minuman.** Jurnal Teknologi Pertanian 11(2) : 87-93.
- Fitrihana, N. 2007. **Teknik Eksplorasi Zat Pewarna Alam dari Tanaman di Sekitar Kita untuk Perendaman Bahan Tekstil.** Dilihat 28 Maret 2017. <<http://batikyogyawordpress.com/2007/0/8/2teknik-eksplorasi-zat-pewarna-dari-tanaman-di-sekitar-kita-untuk-pencelupan-bahan-tekstil/>>

- Gaperz, V. 1995. **Teknik Analisis dalam Penelitian Percobaan Jilid 1 dan 2**. Tarsito. Bandung.
- Hagerman, A.E. 2002. **Tannin Handbook**. Miami University. Miami.
- Handayani, D., A. Mun'im, A. S. Ranti. 2014. **Optimasi Ekstraksi Ampas Teh Hijau (*Camellia sinensis*) menggunakan Metode *Microwave Assisted Extraction* untuk Menghasilkan Ekstrak Teh Hijau**. Jurnal Trad. Med 19(1) : 29-35.
- Ismarani. 2012. **Potensi Senyawa Tanin dalam Menunjang Produksi Ramah Lingkungan**. Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah 3(2): 46-55.
- Jain, T., V. Jain, R. Pandey, A. Vyas, S. S. Shukla. 2009. ***Microwave Assisted Extraction for Phytoconstituents – An Overview*** . Asian Journals Research Chemistry 1(2) : 19-25.
- Jatmikoningtyas, W. 2001. **Uji Antibakteria Dekokta Daun Jambu Biji (*Psidium guava*) terhadap Bakteri-Bakteri Intestinal (*Escherechia coli*, *Shinggela dysenteriae*, *Vibrio cholerae*) Penyebab Diare Akut**. Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Malang.
- Kasmudjo. 2010. **Teknologi Hasil Hutan**. Cakrawala Media. Yogyakarta.
- Kismolo, E. 2000. **Teknik Pemekatan Larutan Ekstrak Bahan Pewarna Alam Menggunakan Rotavapor R-151 Standart**. Seminar Nasional industri Kulit, Karet dan Plastik. Batan. Yogyakarta.
- Khopkar, S. M. 2003. **Konsep Dasar Kimia Analitik**. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta
- Kun-Nan, C dan Ming-Ju, C.2009. ***Statistical Optimization : Response Surface Methodology. Optimiation in Food Engginering***. CRC Press. Boca Raton.

- Kumari, K. S., Babu, I.S., and Rao, G. H. 2008. ***Process Optimiation for Citric Acid Production from Raw Glycerol using Response Surface Methodology***. *Indian Journal of Biotechnology* : 496-501.
- Lazuardi, R. N. M. 2010. **Mempelajari Ekstraksi Pigmen Antosianin dari Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dengan Berbagai Jenis Pelarut**. Jurusan Teknologi Pangan. Fakultas Teknik. Universitas Pasundan. Bandung.
- Lee T.A., Sci B.H., Counsel. 2005. ***The Food From Hell: Food Colouring***. *The Internet Journal of Toxicology* 2(2) : 466-468.
- Lestari, P. 2014. **Ekstraksi Tanin dari Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) sebagai Pewarna Alami (Kajian Proporsi Pelarut dan Waktu Ekstraksi)**. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- Melwita, E., Fatmawati, Santy O. 2014. **Ekstraksi Minyak Biji Kapuk dengan Metode Soxhlet**. *Jurnal Teknik Kimia* 1(20) : 20-27.
- Montgomery, D. C. 2001. ***Design and Analysis of Experiments Fifth Edition***. John Wiley&Sons Inc. New York.
- Muhandri, T., Adil B. A., Rizal S. Dan Sutrisno. 2011. **Optimasi Proses Ekstruksi Mi Jagung dengan Metode Permukaan Respon**. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* XXII(2) : 97-104.
- Mukhriarini. 2014. **Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif**. *Jurnal Kesehatan* VII(2) : 361-367.
- Nawari. 2010. **Analisis Regresi dengan MS Excel 2007 dan SPSS 17**. PT. Elex Media Komputindo. Jakarta.
- Nisfianoor, M. 2009. **Pendekatan Statistika Modern untuk Ilmu Sosial**. Salemba Humanika. Jakarta

- Nurmiah, S., Syarif, R., Sukarno, Peranginangin, R., dan Nurtama, B. 2013. **Aplikasi *Response Surface Methodology* pada Optimasi Kondisi Proses Pengolahan *Alkali Treated Cottoni* (ATC).** JPB Kelautan dan Perikanan 8(1) : 9-22.
- Oematan, Z. Z. B. 2015. **Pengaruh Perbedaan Suhu dan Waktu Ekstraksi terhadap Kandungan Tanin pada Ekstrak Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.).** Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya 4(2) : 1-12
- Owolabi M A, Coker dan S.I. Jaja. 2010. ***Bioactivity of The Phytoconstituents of the Leaves of Persea Americana.*** *Journal of Medicinal Plants Research* 4(12) : 1130-1135.
- K.H. Prabhu, M.D. Teli. 2014. ***Eco-Dyeing Using Tamarindus Indica L. Seed Coat Tannin as a Natural Mordant for Textiles with Antibacterial Activity.*** *Journal of Saudi Chemical Society* 18 : 864–872.
- Putri, D., Gustria H., dan Suryati Y. 2016. **Pengaruh Panjang Entres terhadap Keberhasilan Penyambungan Tanaman Alpukat (*Persea americana* Mill).** *Jurnal Agrosains dan Teknologi* 1(1) : 32-44.
- Putri, Widya D. R., Elok Z dan Sholahudin. 2005. **Ekstraksi Pewarna Alami Daun Suji, Kajian Pengaruh Blanching dan Jenis Bahan Pengekstrak.** *Jurnal Teknologi Pertanian* 4(1):13-24.
- Rafiee, Z. S. M. Jafari, M. Alami, M. Khomeiri. 2011. ***Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Olive Leaves; A Comparison with Maceration.*** *The Journal of Animal & Plant Sciences* 21(4): 738-745.
- Rahardjo, R dan Rosalinawati I. 2002. **Optimasi Produksi dengan Metode *Response Surface* Studi Kasus pada Perusahaan *Injection Moulding*.** *Jurnal Teknik Industri* 4(1) : 36-44.

- Raissi, S., and Farzani, R. E. 2009. ***Statistical Process Optimization through Multi Response Surface Methodology***. World Academy of Science, Enggining and Technology : 267-271.
- Raykundaliya, D. P. dan Shanubhogue A. 2015. ***Comparison Study : Taguchi Methodology vis.-a-vis. Response Surface Methodology Through a Case Study of Accelerated Failure in Spin-on-Filter***. International Advanced Research Journal In Science, Enggineering and Technology 2(3) : 1-5.
- Rhazi, N., H. Hanache, M. Oumam, A. Sesbou, B. Chharrier, A. Pizzi, F. Charrier- El Bouhtoury. 2015. ***Green Extraction Process of Tannins Obtained from Moroccan Acacia mollissima Barks by Microwave : Modelling and Optimization of the Process Using the Response Surface Methodology RSM***. Arabian Journal of Chemistry : 1-17.
- Rukmana R. 1997. **Seri dan Budidaya Alpukat**. Kanisius. Yogyakarta.
- Saati, E. A. 2004. **Studi Efektivitas Ekstrak Pigmen Antosianin Bunga Mawar (*Rosa sp.*) terhadap Sumbangan Warna dan Daya Antioksidan pada Produk Makanan**. Skripsi. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Fakultas Pertanian. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Salas, P. G., M. S. Aranzazu, S. C. Antonio, F. G. Alberto. 2010. ***Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Sample***. Journal Molecules 15 : 8813-8826.
- Santoso, S. 2009. **Panduan Lengkap Menguasai Statistik dengan SPSS 17**. PT. Elex Media Komputindo. Jakarta.
- Schofield, P., Mbugua, D.M, dan Pell, A.N. 2001. ***Analysis of Condensed tannins***. Animal Feed Science and technology 91 : 21-40.

- Sibuea, F. S. Y. 2015. **Ekstraksi Tanin dari Kluwak (*Pangium edule* R.) menggunakan Pelarut Etanol dan Aquades dan Aplikasinya sebagai Pewarna Makanan.** Tugas Akhir. Fakultas Teknik. Universitas Negeri Semarang.
- Sudarmi, S, Purwo S., Anna S., dan Anggun S. W. 2015. **Ekstraksi Sederhana Antosianon dari Kulit Buah Naga (*Hylozocereus polyrhizus*) sebagai Pewarna Alami.** Jurnal Eksergi XII(1) : 5-7.
- Tensiska, E. S dan Dita N. 2007. **Ekstraksi Pewarna Alami dari Buah Arben (*Rubus idaeus* L.) dan Aplikasinya pada Sistem Pangan.** Jurusan Teknologi Industri Pertanian. Fakultas Teknologi Industri Pertanian. Universitas Padjajaran Bandung.
- Utami. 2009. **Potensi Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) sebagai Sumber Antioksidan Alami.** Jurnal Teknik Kimia UPN Jawa Timur 2(1) : 58-64.
- Widoretno, D. R., D. Kunhermanti, Mahfud dan L. Qadariyah. **Ekstraksi Kayu Nangka (*Artocarpus heterophyllus lam*) dengan Pelarut Etanol sebagai Pewarna Tekstil Menggunakan Metode *Microwave-Assisted Extraction*.** Jurnal Teknik ITS 5(2) : 237-241.
- Wijaya, A., Fazrin A. F., Nurul D. A., Susilo F. A., dan Ameliya S. 2011. **Zat Warna Alam dalam Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) sebagai Pewarna Alam pada Bahan Tekstil.** Skripsi. Sekolah Tinggi Teknologi Tekstil. Bandung
- Winarti, S., Ulya S. Dan Dhini A. 2008. **Ekstraksi dan Stabilitas Warna Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas* L.) sebagai Pewarna Alami.** Jurnal Teknik Kimia 3(1) : 207-213.
- Wiratmaja, I.G., I Gusti Bagus Wijaya Kusuma dan I Nyoman S.W. 2011. **Pembuatan Etanol Generasi Kedua dengan Memanfaatkan Limbah Rumput Laut *Eucheuma***

***Cottonii* sebagai Bahan Baku.** Jurnal Ilmiah Teknik Mesin
5(1) : 75-84.

Wu, Shaowen, C. Ford dan G. Horn. 2009. **Patent application number: 20090246343: Stable Natural Color Process, Products and Use Thereof.**

Yuliarti, N. 2007. **Awat! Bahaya Dibalik Lezatnya Makanan.**
ANDI. Yogyakarta.

Lampiran 1. Analisa Kadar Rendemen

Ekstrak daun alpukat ditimbang dengan timbangan analitik, kemudian dicatat berat awal. Setelah itu dilakukan evaporasi dengan *Rotary Vacuum Evaporator* dengan suhu 35°C sampai benar-benar pelarut tidak lagi menetes. Selanjutnya ekstrak yang sudah dievaporasi ditimbang lagi dengan timbangan analitik dan dicatat berat akhir dan dihitung rendemennya dengan rumus:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat Akhir (gram)}}{\text{Berat Awal (gram)}} \times 100\%$$

$$\text{Contoh : Rendemen (\%)} = \frac{22,89 \text{ gram}}{252,33 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = 0,09071 \times 100\%$$

$$\text{Rendemen (\%)} = 9,071$$

Lampiran 1. Analisa Kadar Rendemen (lanjutan)

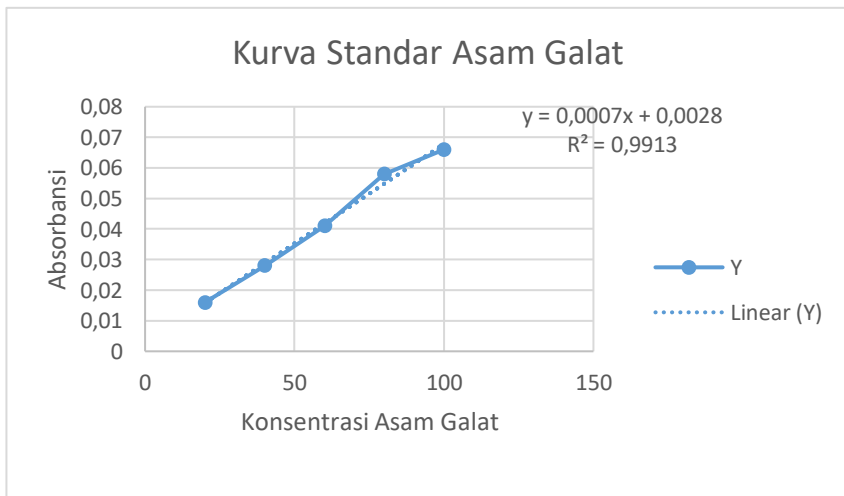
No.	Variabel			Variabel Kode			Berat Awal (gram)	Berat Akhir (gram)	Respon Rendemen (%)
	Rasio Bahan Terhadap Pelarut	Lama Waktu Ekstraksi (menit)	Suhu Ekstraksi (°C)	X ₁	X ₂	X ₃			
1	0,04	20	50	0	1	-1	252,33	22,89	9,071
2	0,06	10	55	1	-1	0	238,49	28,81	12,08
3	0,04	20	60	0	1	1	248,95	29,61	11,89
4	0,02	15	60	-1	0	1	266,01	19,77	7,432
5	0,06	20	55	1	1	0	240,43	28,85	12,00
6	0,02	20	55	-1	1	0	267,96	19,71	7,356
7	0,04	15	55	0	0	0	257,24	25,25	9,816
8	0,06	15	50	1	0	-1	232,15	26,32	11,337
9	0,04	15	55	0	0	0	254,16	25,04	9,852
10	0,04	10	60	0	-1	1	254,97	24,12	9,46
11	0,04	10	50	0	-1	-1	259,88	29,34	11,2898
12	0,06	15	60	1	0	1	249,75	27,92	11,179
13	0,02	10	55	-1	-1	0	270,53	21,77	8,047
14	0,02	15	50	-1	0	-1	263,5	16,56	6,285
15	0,04	15	55	0	0	0	253,41	22,33	8,812

Lampiran 2. Analisa Kadar Tanin (Tambe dan Rajendra, 2014)

Pembuatan larutan stok asam galat 100 ppm, kemudian diencerkan menjadi 80, 60, 40, dan 20 ppm. Selanjutnya dibuat kurva standar asam galat dengan memasukkan 0,1 ml larutan asam galat berbagai konsentrasi ke dalam labu takar 10 ml, ditambahkan 7,5 ml akuades, 0,5 ml reagen Follin Ciocalteu dan 1 ml Na_2CO_3 35%. Kemudian ditambahkan akuades sampai tanda batas labu takar. Simpan pada suhu ruang selama 30 menit. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 725 nm. Selanjutnya dibuat kurva standar dengan sumbu x (absis) adalah konsentrasi asam galat dan sumbu y (ordinat) adalah absorbansi. Blanko adalah 8,5 ml akuades, 0,5 ml reagen Follin Ciocalteu dan 1 ml Na_2CO_3 35%. Untuk mengukur kadar tanin sampel, prosedur dilakukan dengan cara yang sama seperti pembuatan kurva standar, namun asam galat diganti dengan sampel 0,1 ml 100 ppm.

Asam Galat	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
20 ppm	2	0,016
40 ppm	4	0,028
60 ppm	6	0,041
80 ppm	8	0,058
100 ppm	10	0,066

Kurva Standar Asam Galat (panjang gelombang 725 nm)



Lampiran 2. Analisa Kadar Tanin (Tambe dan Rajendra, 2014) (lanjutan)

Contoh : Absorbansi = 0,573

$$Y = ax + b$$

$$Y = 0,0007x + 0,0028$$

$$0,573 = 0,0007x + 0,0028$$

$$X = (0,5703 - 0,0028) / 0,0007$$

$$X = 814,57 \text{ mg GAE/g}$$

No.	Variabel			Variabel Kode			absorbansi	a	b	Kadar Total Tanin (mg GAE/g)
	Rasio Bahan Terhadap Pelarut	Lama Waktu Ekstraksi (menit)	Suhu Ekstraksi (°C)	X ₁	X ₂	X ₃				
1	0,04	20	50	0	1	-1	0,573	0,0007	0,0028	814,57
2	0,06	10	55	1	-1	0	0,369	0,0007	0,0028	523,14
3	0,04	20	60	0	1	1	0,551	0,0007	0,0028	783,14
4	0,02	15	60	-1	0	1	0,257	0,0007	0,0028	363,14
5	0,06	20	55	1	1	0	0,398	0,0007	0,0028	564,57
6	0,02	20	55	-1	1	0	0,404	0,0007	0,0028	573,14
7	0,04	15	55	0	0	0	0,674	0,0007	0,0028	958,86
8	0,06	15	50	1	0	-1	0,362	0,0007	0,0028	513,14
9	0,04	15	55	0	0	0	0,75	0,0007	0,0028	1067,43
10	0,04	10	60	0	-1	1	0,364	0,0007	0,0028	516,00
11	0,04	10	50	0	-1	-1	0,371	0,0007	0,0028	526,00
12	0,06	15	60	1	0	1	0,398	0,0007	0,0028	564,57
13	0,02	10	55	-1	-1	0	0,19	0,0007	0,0028	267,43
14	0,02	15	50	-1	0	-1	0,316	0,0007	0,0028	447,43
15	0,04	15	55	0	0	0	0,704	0,0007	0,0028	1001,71

Lampiran 3. Tabel *Sequential Model Sum of Squares Respon Rendemen*

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F Hitung	p-value Prob > F	Keterangan
Mean vs Total	1419,04	1	1419,04			
Linear vs Mean	38,66	3	12,89	13,21	0,0006	
2FI vs Linear	5,92	3	1,97	3,28	0,0798	
<u>Quadratic vs 2FI</u>	<u>4,00</u>	<u>3</u>	<u>1,33</u>	<u>8,10</u>	<u>0,0230</u>	<u>Suggested</u>
Cubic vs Quadratic	0,13	3	0,042	0,12	0,9404	Aliased
Residual	0,70	2	0,35			
Total	1468,44	15	97,90			

Lampiran 4. Tabel *Lack of Fit* Respon Rendemen

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F Hitung	p-value Prob > F	Keterangan
Linear	10,04	9	1,12	3,20	0,2607	
2FI	4,12	6	0,69	1,97	0,3742	
<u>Quadratic</u>	<u>0,13</u>	<u>3</u>	<u>0,042</u>	<u>0,12</u>	<u>0,9404</u>	<u>Suggested</u>
Cubic	0,000	0				Aliased
Pure Error	0,70	2	0,35			

Lampiran 5. Tabel *Model Summary Statistics* Respon Rendemen

Sumber Keragaman	Standar Deviasi	Adjusted		Predicted		Keterangan
		R-Squared	R-Squared	R-Squared	PRESS	
Linear	0,99	0,7827	0,7324	0,5519	22,13	
2FI	0,78	0,9025	0,8293	0,5533	22,06	
<u>Quadratic</u>	<u>0,41</u>	<u>0,9834</u>	<u>0,9534</u>	<u>0,9276</u>	<u>3,58</u>	<u>Suggested</u>
Cubic	0,59	0,9859	0,9012		+	Aliased

Lampiran 6. Tabel Analisis Ragam (ANOVA) Respon Rendemen

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	Nilai F	Nilai P Prob>F	Keterangan
Model	48,58	9	5,40	32,81	0,0006	Signifikan
A	38,13	1	38,13	231,84	<0,0001	Signifikan
B	0,040	1	0,040	0,25	0,6409	Tidak Signifikan
C	0,49	1	0,49	2,98	0,1451	Tidak Signifikan
AB	0,090	1	0,090	0,55	0,4920	Tidak Signifikan
AC	0,43	1	0,43	2,59	0,1686	Tidak Signifikan
BC	5,40	1	5,40	32,84	0,0023	Signifikan
A ²	0,91	1	0,91	5,55	0,0651	Tidak Signifikan
B ²	2,81	1	2,81	17,07	0,0091	Signifikan
C ²	0,014	1	0,014	0,087	0,7805	Tidak Signifikan
Residual	0,82	5	0,16			
Lack of Fit	0,13	3	0,042	0,12	0,9404	Tidak Signifikan
Pure Error	0,70	2	0,35			
Cor Total	49,40	14				

Keterangan :

A = Variabel X₁ (rasio bahan terhadap pelarut)

B = Variabel X₂ (lama ekstraksi)

C = Variabel X₃ (suhu ekstraksi)

AB, AC, BC = interaksi antar perlakuan

Lampiran 7. Tabel *Sequential Model Sum of Squares* Respon Total Tanin

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F Hitung	p-value Prob > F	Keterangan
Mean vs Total	5,997E+006	1	5,997E+006			
Linear vs Mean	1356E+005	3	45214,21	0,76	0,5406	
2FI vs Linear	22180,77	3	7393,59	0,093	0,9616	
<u>Quadratic vs 2FI</u>	<u>6,225E+005</u>	<u>3</u>	<u>2,075E+005</u>	<u>90,39</u>	<u><0,0001</u>	<u>Suggested</u>
Cubic vs Quadratic	5496,86	3	1832,29	0,61	0,6686	Aliased
Residual Total	5980,90 6,789E+006	2 15	2990,45 4,526E+005			

Lampiran 8. Tabel *Lack of Fit* Respon Total Tanin

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F Hitung	p-value Prob > F	Keterangan
Linear	6,502E+005	9	72240,44	24,16	0,0404	
2FI	6,280E+005	6	1,047E+005	35,00	0,0280	
<u>Quadratic</u>	<u>5496,86</u>	<u>3</u>	<u>1832,29</u>	<u>0,61</u>	<u>0,6686</u>	<u>Suggested</u>
Cubic	0,000	0				Aliased
Pure Error	5980,90	2	2990,45			

Lampiran 9. Tabel *Model Summary Statistics* Respon Total Tanin

Sumber Keragaman	Standar Deviasi	Adjusted		Predicted		Keterangan
		R-Squared	R-Squared	R-Squared	PRESS	
Linear	244,23	0,1713	-0,0547	-0,2320	9,755E+005	
2FI	281,51	0,1993	-0,4012	-0,9822	1,569E+006	
<u>Quadratic</u>	<u>47,91</u>	<u>0,9855</u>	<u>0,9594</u>	<u>0,8719</u>	<u>1,014E+005</u>	<u>Suggested</u>
Cubic	54,68	0,9924	0,9471		+	Aliased

Lampiran 10. Tabel Analisis Ragam (ANOVA) Respon Total Tanin

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	Nilai F	Nilai P Prob>F	Keterangan
Model	7,803E+005	9	86701,08	37,77	0,0005	Signifikan
A	33060,49	1	33060,49	14,40	0,0127	Signifikan
B	1,019E+005	1	1,019E+005	44,39	0,0011	Signifikan
C	689,88	1	689,88	0,30	0,6071	Tidak Signifikan
AB	17460,98	1	17460,98	7,61	0,0399	Signifikan
AC	4604,98	1	4604,98	2,01	0,2158	Tidak Signifikan
BC	114,81	1	114,81	0,050	0,8319	Tidak Signifikan
A ²	4,721E+005	1	4,721E+005	205,64	<0,0001	Signifikan
B ²	1,063E+005	1	1,063E+005	46,32	0,0010	Signifikan
C ²	1,192E+005	1	1,192E+005	51,94	0,0008	Signifikan
Residual	11477,76	5	2295,55			
Lack of Fit	5496,86	3	1832,29	0,61	0,6686	Tidak Signifikan
Pure Error	5980,90	2	2990,45			
Cor Total	7,918E+005	14				

Keterangan :

A = Variabel X₁ (rasio bahan terhadap pelarut)

B = Variabel X₂ (lama ekstraksi)

C = Variabel X₃ (suhu ekstraksi)

AB, AC, BC = interaksi antar perlakuan

Lampiran 11. Solusi Optimum *Software Design Expert 7.0.0*

Criteria Solutions Graphs							
Solutions 1							
Constraints							
Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Lower Weight	Upper Weight	Importance	
Rasio Bahan Ter	is in range	0.02	0.06	1	1	3	
Lama Waktu Eks	is in range	10	20	1	1	3	
Suhu Ekstraksi	is in range	50	60	1	1	3	
Rendemen	maximize	6.285	12.08	1	1	3	
Total Tanin	maximize	267.43	1067.43	1	1	3	
Solutions							
Number	Rasio Bahan Ter	Lama Waktu Eks	Suhu Ekstraksi	Rendemen	Total Tanin	Desirability	
1	<u>0.05</u>	<u>20.00</u>	<u>57.15</u>	<u>11.5658</u>	<u>880.094</u>	<u>0.835</u>	<u>Selected</u>
1 Solutions found							

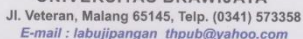
Lampiran 12. Tabel Verifikasi Hasil Optimum

Respon Rendemen

No.	Variabel			Berat Awal (gram)	Berat Akhir (gram)	Respon Rendemen (%)
	Rasio Bahan Terhadap Pelarut	Lama Waktu Ekstraksi (menit)	Suhu Ekstraksi (°C)			
1	0,05	20	57,15	254,83	28,11	11,0308

Respon Total Tanin





No	Variabel			absor bansi	a	b	total tanin (mg GAE/g)
	Rasio Bahan Terhadap Pelarut	Lama Waktu Ekstraksi (menit)	Suhu Ekstraksi (°C)				
1	0,05	20	57,15	0,62	0,0007	0,0028	881,714




Dr. Widya Dwi Rukmi P., STP, MP
NIP. 19700504 199903 2 002

Lampiran 14. Dokumentasi Penelitian



1. Bahan untuk Penelitian

Dokumentasi	Nama Bahan
	Daun alpukat tua
	Pereaksi Follin-Cicalteu
	Serbuk Natrium Karbonat
	Pelarut Etanol 95% (teknis)

Lampiran 14. Dokumentasi Penelitian (lanjutan)

Dokumentasi	Nama Bahan
	Aquades




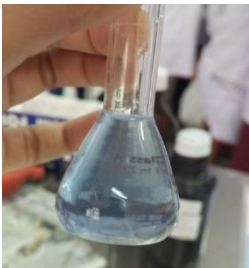
2. Proses Ekstraksi Pewarna Alami Daun Alpukat

Dokumentasi	Nama Kegiatan
	Penimbangan serbuk daun alpukat
	Sampel yang sudah dilarutkan pelarut untuk proses ekstraksi


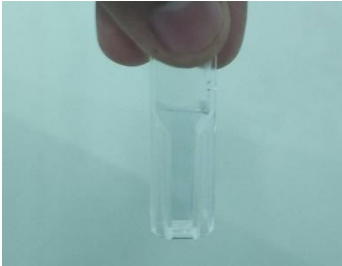


Lampiran 14. Dokumentasi Penelitian (lanjutan)

Dokumentasi	Nama Kegiatan
	Sampel dimasukkan kedalam <i>microwave</i>
	Pengaturan lama waktu ekstraksi
	Pengaturan suhu ekstraksi
	Proses ekstraksi

Lampiran 14. Dokumentasi Lampiran (lanjutan)]

Dokumentasi	Nama Kegiatan
	Penyaringan ekstrak setelah diekstraksi
	Pengukuran ekstrak yang didapat
	Proses Evaporasi
	Pembuatan sampel untuk analisis total tanin

Lampiran 14. Dokumentasi Penelitian (lanjutan)

Dokumentasi	Nama Kegiatan
	Sampel untuk analisis total tanin dengan spektrofotometer
	Pembuatan blanko untuk spektrofotometer
	Hasil pengukuran dengan spektrofotometer
	Ekstrak pewarna alami dari daun alpukat